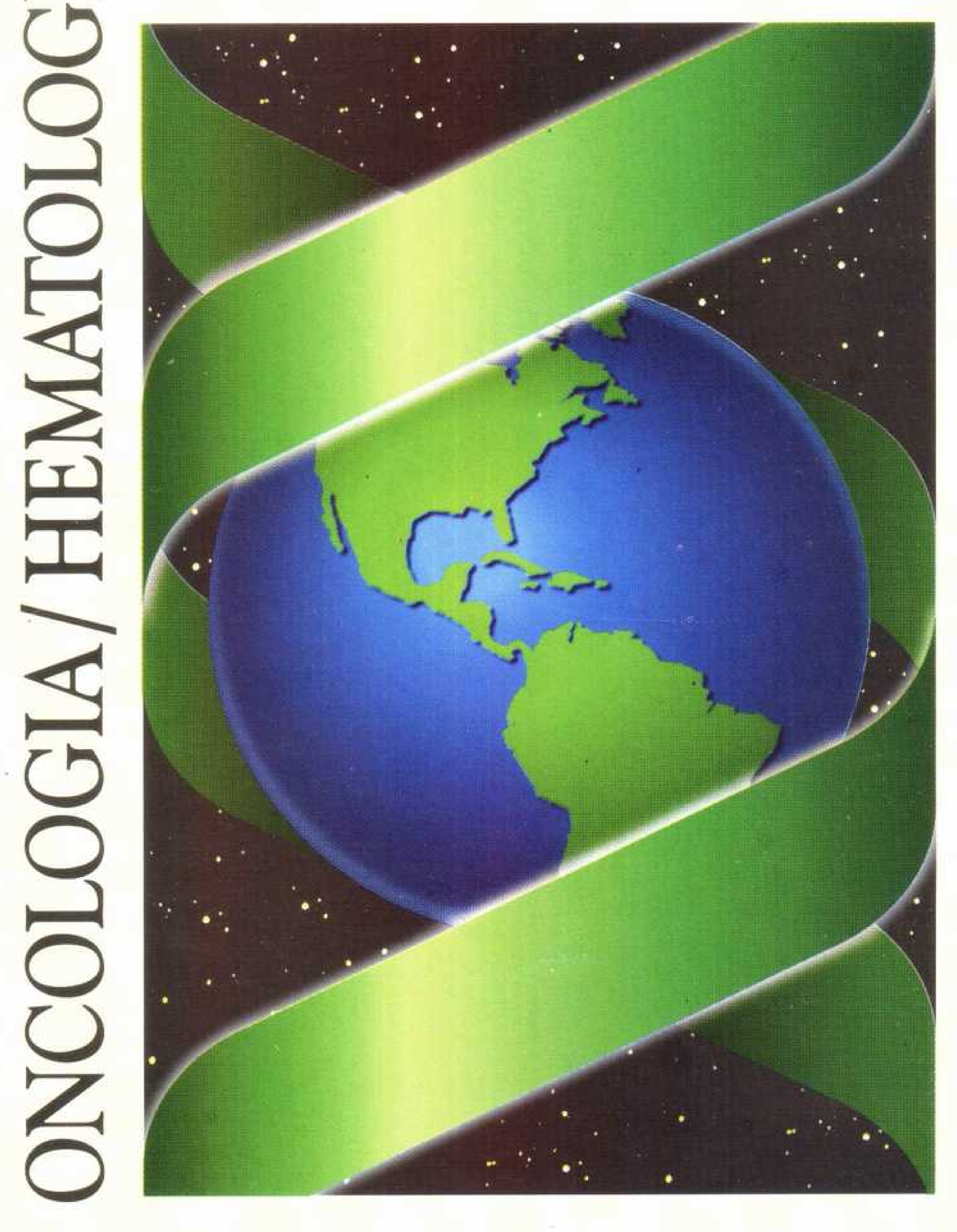


Biotecnología

UN MUNDO DE SALUD

















Director Científico:
Dr. Omar Althabe

Producción y realización gráfica:
Base de Datos S.A.
Cerrito 1136 - 5º piso
Tel.: 813-6891
Capital Federal

Base de Datos S.A.
es responsable de su publicación.

Publicación periódica científico-cultural, distribuida exclusiva y gratuitamente al cuerpo médico.
Sin valor comercial.
Las opiniones expresadas en sus páginas son las de los autores y no involucran necesariamente el pensamiento del editor y de la dirección de la revista.

Impreso en
Sociedad Impresora Americana S.A.I.C.
Bs. As. - Argentina



Schering Plough S.A.C.I.
Av. San Martín 1750 (1602)
Florida BUENOS AIRES
Tel.: 796-5111

AÑO 5 - Nº 18

LEUCOTRIENOS: PARA BIEN O PARA MAL

LOS LEUCOTRIENOS DESEMPEÑAN UNA FUNCIÓN CRUCIAL EN LA GENERACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA ANTE ESTÍMULOS INMUNITARIOS. EL EXCESO DE PRODUCCIÓN DE ESTAS SUSTANCIAS SE ASOCIA CON LA INSTALACIÓN DE DIVERSAS ENFERMEDADES.

La respuesta inflamatoria al daño tisular puede ocasionar por sí sola nuevas agresiones al tejido afectado. De hecho, la reacción inflamatoria crónica sería fundamental en el mecanismo patogénico de numerosas enfermedades, como la psoriasis, el asma, la artritis reumatoidea y la enfermedad inflamatoria. intestinal entre otras.

La causa de la inflamación podría ser una activación indiscriminada de los componentes del sistema de respuesta inmunitaria específica e inespecífica. En cualquiera de los dos casos se ha propuesto que el efecto final del estímulo inflamatorio estaría a cargo de moléculas derivadas de componentes lipídicos de las membranas celulares: los leucotrienos. Éstos pertenecen a la familia de los eicosanoides, junto con las prostaglandinas, los tromboxanos y las lipoxinas; su estructura general corresponde a la de ácidos grasos oxigenados que contienen grupos oxhidrilo, epoxi e hidroperoxilo, con excepción de algunos compuestos que transportan péptidos pequeños (entre uno y tres aminoácidos) como sustituyentes. El nombre proviene de la presencia de tres dobles ligaduras conjugadas (trieno) y de la incapacidad de estas sustancias de absorber luz en el espectro visible.

La 5-lipooxigenasa es la enzima clave en la ruta biosintética de los leucotrienos.

Los leucotrienos no se encuentran almacenados en vesículas secretoras, sino que se sintetizan a partir de precursores ubicados en la membrana celular, en el momento en que se recibe el estímulo desencadenante. La molécula precursora es un fosfolípido entre cuyos ácidos grasos sustituyentes se encuentra el ácido araquidónico. Una serie de enzimas, que intervienen en la "cascada del ácido araquidónico", es responsable de la hidrólisis del residuo ácido graso desde la forma fosfolipídica, y de los procesos enzimáticos posteriores, entre los que se incluye la inserción en él de oxígeno molecular, para llegar a los productos finales.

UN EMPUJÓN HACIA LA CASCADA

Los estímulos desencadenantes de la síntesis de eicosanoides se relacionan con los procesos traumáticos, infecciosos e inflamatorios. La apertura de canales del calcio, asociados a receptores específicos, provoca la elevación de la concentración intracelular de Ca^{2+}, lo cual induce la transformación de una forma de la enzima fosfolipasa A_2, soluble en el citoplasma acuoso, a una forma parcialmente liposoluble que se inserta en la membrana citoplasmática. La fosfolipasa A_2 es la responsable de la hidrólisis de los residuos de ácido araquidónico de su fosfolípido portador.

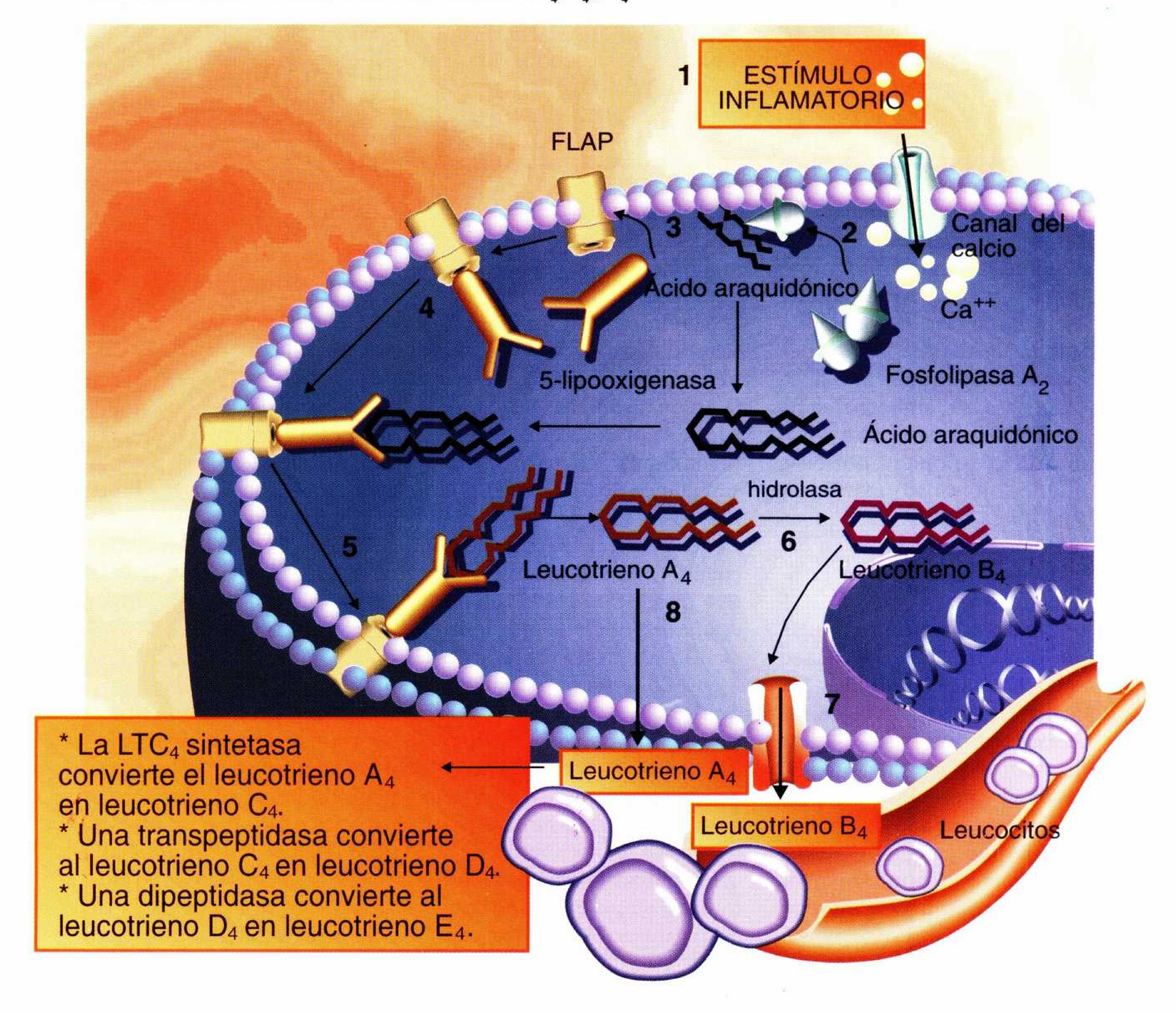
El ácido araquidónico liberado permanecería en la membrana celular y se convertiría en el sustrato de otra enzima, la 5-lipooxigenasa (al igual que la fosfolipasa A_2 es transformada en liposoluble y extraída del citoplasma hacia la membrana), que para adquirir actividad debe formar un complejo con calcio y ATP. La 5-lipooxigenasa, en conjunto con una proteína que la activa (pa5L), convierte, en un proceso de dos pasos sucesivos, al ácido araquidónico en una primera sustancia intermediaria —el ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico (HPETE), de naturaleza altamente reactiva e inestable— y, luego de una segunda oxidación, en otro producto inestable: el leucotrieno A_4 (LTA_4).

A partir de éste se sintetizan el leucotrieno B_4 (LTB_4) —por una vía metabólica— y por otra los cisteinil-leucotrienos (LTC_4, LTD_4 y LTE_4).

La primera enzima de la ruta metabólica que da origen a los leucotrienos sustituidos por residuos peptídicos es la leucotrieno C_4 sintetasa (C_4s). Su sustrato es el LTA_4, que es convertido por esta enzima en LTC_4 por transferencia de un residuo del tripéptido sulfurado glutatión. Él leucotrieno D_4 se origina por hidrólisis de ácido glutámico desde el residuo glutationil del LTC_4, gracias a la intervención de una dipeptidasa. El leucotrieno E_4 se obtiene tras la remoción del siguiente aminoácido, glicina, del sustituyente peptídico del LTD_4.

La biosíntesis de los leucotrienos tiene lugar en diversos compartimientos biológicos, siguiendo la distribución de las enzimas que catalizan cada paso del proceso. De hecho, la posibilidad de translocación de los intermediarios de la síntesis entre distintos tipos de cé-

Representación esquemática de la formación de leucotrienos en las células inflamatorias y en sus sitios de acción. 1) El estímulo inflamatorio produce el transporte de iones calcio (Ca^{2+}), mediado por receptores, al interior de la célula. 2) La fosfolipasa A_2 citosólica, migra del citosol a la membrana plasmática, donde cliva el ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana. 3) La 5-lipooxigenasa migra desde el citosol a la membrana, activada por el calcio. 4) Allí se une a su proteína activadora de membrana (FLAP) y 5) transforma el ácido araquidónico en 5-HPETE, primero y en leucotrieno A_4, después. 6) El leucotrieno A_4 se convierte en B_4, por acción de su hidrolasa citoplasmática, 7) que sale a través de canales de membrana hacia el endotelio vascular y los leucocitos. 8) El leucotrieno A_4 sale de la célula, a su vez, y puede seguir sufriendo oxidaciones en sus 20 átomos de carbono y transformarse en forma paulatina, en metabolitos menos activos, como los leucotrienos C_4, D_4 y E_4.



ACCIONES DEL LEUCOTRIENO B_4

ACCIÓN BIOLÓGICA del LTB_4	DETALLE
Quimiotaxis	Favorece el acercamiento y la agregación de neutrófilos en las zonas inflamadas.
Adhesión celular	Induce la biosíntesis rápida de proteínas de adherencia en los neutrófilos (a las células endoteliales).
Activación del neutrófilo	Provoca la desgranulación de los neutrófilos y la liberación de enzimas lisosómicas (glucuronidasa, lisozima).
Modulación inmunitaria	Estimula la mielopoyesis (médula ósea) y la proliferación de los linfocitos T (periférico).
Estímulo del dolor	La presencia de LTB_4 en un tejido induce una reacción hiperalgésica prolongada que depende de la presencia de neutrófilos (en ratas).

lulas permite que aquellas que carecen de alguna de las enzimas iniciales tengan a su cargo la etapa final de formación de estas sustancias; por ejemplo, sólo las células de las estirpes mieloides expresan la 5-lipooxigenasa, sin embargo, se ha demostrado que el LTA_4 producido y exportado por ellas puede biotransformarse en cualquiera de las otras formas biológicamente activas en células que no expresan la 5-lipooxigenasa.

Dentro del grupo de células que poseen 5-lipooxigenasa se encuentran los neutrófilos, los eosinófilos, los macrófagos, los monocitos, los basófilos, los mastocitos y los linfocitos B. La distribución de las enzimas que dan origen a los derivados del LTA_4 no es igual en ellas, por lo tanto, aunque la mayor parte de ellas puede secretar LTB_4 o LTC_4, sólo en los monocitos y macrófagos ambos leucotrienos son producidos por el mismo tipo de célula. Se ha determinado que los macrófagos peritoneales y los monocitos son capaces de responder a estímulos inmunitarios (como la unión de inmunoglobulinas a los receptores Fc de la membrana celular) con la secreción simultánea de LTB_4 y de LTD_4. Los eosinófilos producen casi exclusivamente leucotrieno C_4 cuando están activados, aunque puede obtenerse una pequeña secreción de LTB_4 induciendo la activación con ionóforos. Los mastocitos, al menos los aislados del tejido pulmonar, producen principalmente LTC_4, tanto por estimulación inmunitaria (unión del fragmento Fc de la inmunoglobulina E a los receptores de la célula cebada) como por ionóforos. Los macrófagos alveolares producen LTB_4 en alta cantidad y escaso LTC_4 cuando son estimulados (IgG, IgE e ionóforos). Por último, tanto los neutrófilos como los basófilos secretan principalmente LTB_4, aunque en el segundo tipo también es posible detectar la síntesis de una cantidad significativa de LTC_4.

La producción secundaria de otros leucotrienos a partir del LTA_4, generado por las células mieloides, sería una manera de amplificar la respuesta inflamatoria en los sitios donde existe una reacción inmunitaria. Las plaquetas y las células endoteliales, por ejemplo, expresan la enzima LTC_4 sintetasa, por lo que pueden tomar el LTA_4 circundante y transformarlo en LTC_4; los eritrocitos poseen niveles importantes de la enzima LTA_4 hidrolasa, razón por la cual pueden contribuir a la reacción inflamatoria fabricando LTB_4 a partir del LTA_4.

LOS LEUCOTRIENOS EN LAS ENFERMEDADES INFLAMATORIAS

En los pacientes con rinitis alérgica mediante el desafío con un alérgeno, es posible recuperar tanto en las fases tempranas como tardías de los períodos de inflamación mucosa, abundante cantidad de LTC_4 en los líquidos provenientes del lavado nasal.

Los pacientes con asma responden ante la instilación de alérgenos con un perfil típico de producción de leucotrienos. Tras los primeros cinco minutos desde el desafío comienzan a elevarse los niveles de LTC_4 en los líquidos de lavado broncoalveolar, en tanto que dos horas después es posible detectar una elevación

en la cantidad de LTE_4 encontrado en la orina.

En los pacientes con fibrosis quística, las células aisladas de los líquidos del lavado bronquioalveolar son en su mayoría neutrófilos, a diferencia de las presentes en muestras idénticas provenientes de sujetos normales, que contienen 90% de macrófagos alveolares. Esto es compatible con los altos niveles de LTB_4, LTE_4 y LTD_4 hallados en los líquidos de lavado broncoalveolar, esputo y orina de estos pacientes, puesto que una de las acciones de estos leucotrienos incluye la quimioatracción sobre los neutrófilos, lo que explicaría la abundante presencia de estas células en el tejido pulmonar de esos pacientes.

Patrones similares de elevación de leucotrienos, en especial LTB_4, han sido detectados en el síndrome de distrés respiratorio del adulto, en la enfermedad inflamatoria intestinal (medidos en la mucosa colónica), en la artritis reumatoidea (en muestras de líquido sinovial), en la psoriasis (medidos en muestras de piel) y en la glomerulonefritis. En esta última el leucotrieno E_4 también desempeñaría un papel muy importante; en la glomerulonefritis del paciente lúpico, por ejemplo, los niveles urinarios de LTE_4 mantienen una relación directamente proporcional con la actividad del mal; se detecta una gran elevación de LTE_4 durante los períodos de enfermedad activa. En lo que respecta a la psoriasis, se ha demostrado que el LTB_4 aplicado en forma tópica a voluntarios sanos es capaz de reproducir, con bastante aproximación, las características histológicas y clínicas de las lesiones de la piel del paciente psoriásico.

Perspectivas

Se prevé la implementación futura de ingeniosas estrategias para abortar la acción patogénica de los leucotrienos. Una de las ideas que se están estudiando consiste en la utilización de inhibidores de la 5-lipooxigenasa, para evitar la formación de leucotrieno A_4 y sus derivados. Está en estudio un fármaco que posee esta propiedad, el zileutón, que ya ha alcanzado la etapa de estudios clínicos. El zileutón es un compuesto perteneciente a la familia de las hidroxiureas, con actividad quelante de iones metálicos. Es capaz de unirse al sitio activo —que contiene un átomo de hierro— de la 5-lipooxigenasa para bloquear su acción catalítica. Es importante destacar que el zileutón es activo sobre la 5-lipooxigenasa en concentraciones menores que las necesarias para inhibir a las enzimas relacionadas ciclooxigenasa, 12-lipooxigenasa y 15-lipooxigenasa, por lo que carecería de efectos secundarios inhibidores de la generación de las prostaglandinas y de los tromboxanos.

Otra alternativa para inhibir la producción de leucotrienos es la formación de un complejo con la proteína activadora de la 5-lipooxigenasa, la cual es imprescindible para que esta enzima tenga acción catalítica. El MK-0591, un bloqueante de la proteína activadora, ha alcanzado el nivel de estudios clínicos y despierta muchas expectativas.

Los neutrófilos son atraídos a los sitios de lesión por la presencia de leucotrienos.

La última opción manejada para limitar la acción inflamatoria de los leucotrienos es el uso de bloqueantes específicos de sus receptores celulares, en especial para los del LTB_4 y el LTD_4, con lo que se evitaría la respuesta aun cuando los niveles de estos inmunomediadores fueran elevados.

Acciones de los cisteinil-leucotrienos

LEUCOTRIENO	EFECTOS
Leucotrieno C_4	Inducción de la contracción del músculo liso vascular (estasis venosa) y pulmonar (broncoconstricción).
Leucotrieno D_4	Aumento de la permeabilidad vascular.
	Incremento de la secreción de moco.
Leucotrieno E_4	Activación de linfocitos T y monocitos.
	Estimulación de la mielopoyesis.

Referencias

Journal of Immunology *154*: 804-813, 1995.
Annals of Internal Medicine *121*: 684-697, 1994.
Allergy *49*: 837-842, 1994.
Carcinogenesis *15*: 2823-2827, 1994.

PRIONES

EL DESCUBRIMIENTO DEL MECANISMO PATOGÉNICO DE LAS PROTEÍNAS PRIÓNICAS SEÑALA EL CAMINO PARA EL DESARROLLO DE FUTURAS ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS.

Los priones causan una variedad de enfermedades neurodegenerativas que pueden ser infecciosas (transmisibles), heredables o esporádicas y afectan tanto al hombre como a los animales. Estos trastornos, fatales en todos los casos, se conocen en forma genérica con el nombre de encefalopatías espongiformes, ya que el cerebro de los individuos afectados tiene un aspecto como "acribillado", lleno de agujeros.

La proteína priónica infecciosa (PrPsc) tiene la misma secuencia de aminoácidos que la normal, pero distinta conformación.

La enfermedad priónica más común en los animales es el scrapie, que afecta principalmente a los ovinos (ovejas y cabras). Los animales con este trastorno sufren pérdida de la coordinación, se vuelven irritables, desarrollan un intenso prurito y hasta pierden la capacidad de mantenerse de pie. Otras enfermedades priónicas en animales son la encefalopatía transmisible del visón, encefalopatía espongiforme de los felinos —padecida por los gatos domésticos—, la enfermedad del agotamiento crónico de ciervos y alces machos, y la encefalopatía espongiforme de los bovinos (BSE), también conocida como "enfermedad de las vacas locas". En 1986, aproximadamente 130.000 vacas de Gran Bretaña sufrieron una epidemia de esta enfermedad, debido a que ingerían alimentos balanceados que contenían carne y huesos de ovejas muertas por scrapie. Para evitar que la enfermedad continuara diseminándose, el ganado infectado fue sacrificado e incinerado. Este acontecimiento demostró que esta enfermedad podía transmitirse entre especies distintas.

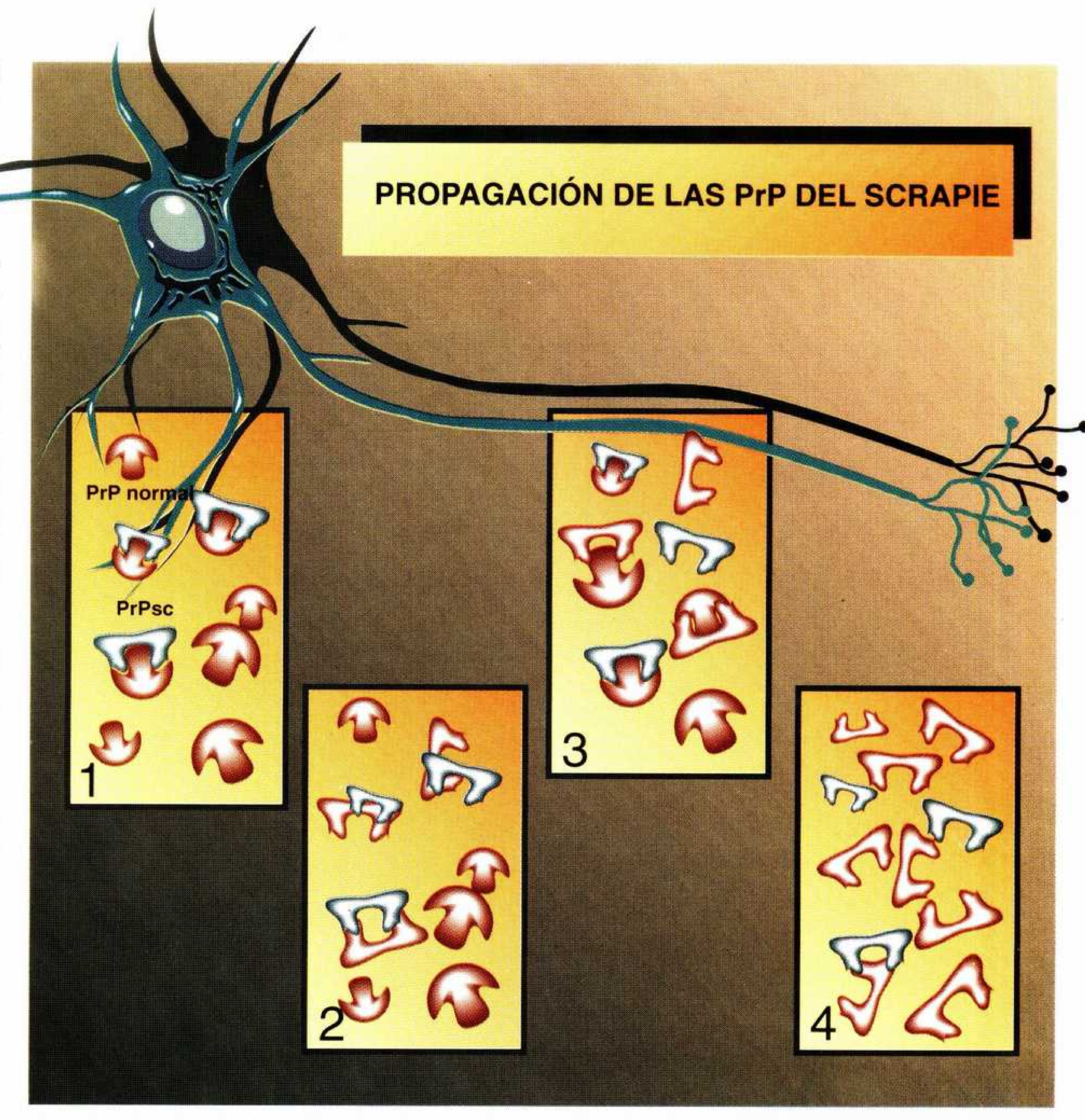
Los primeros datos de enfermedades priónicas en seres humanos provienen de las altas regiones de Nueva Guinea; los habitantes de las regiones montañosas desarrollaban un extraño padecimiento que se manifestaba con pérdida de la coordinación (ataxia) y continuaba con demencia "eufórica", hasta que sobrevenía la muerte, lo que llevó a los nativos a denominarla: "muerte sonriente". Años más tarde recibió el nombre de kuru y se pudo determinar que todos los individuos que lo padecían habían participado en rituales caníbales, muy frecuentes en el lugar puesto que esta tribu rendía culto a la muerte comiendo los cerebros de los difuntos. Con la llegada de la civilización occidental el rito desapareció y junto con él el kuru.

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, a diferencia de la anterior, está diseminada en todo el mundo y se manifiesta como una demencia temprana. Se ha demostrado que puede transmitirse por herencia en aproximadamente 10% a 15% de los casos, o por infección iatrogénica (trasplante de córnea, implantes de electrodos en el cerebro e inyección de hormona de crecimiento derivada de glándulas pituitarias humanas).

Los otros trastornos priónicos que padece el hombre son la enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) y el insomnio fatal familiar; ambas patologías son heredables y se manifiestan en general a partir de los 50 años.

EN BUSCA DEL AGENTE INFECCIOSO PERDIDO

Los priones se diferencian de otros agentes infecciosos porque carecen de DNA o RNA. Se han llevado a cabo experi-



La propagación del scrapie en las neuronas del cerebro tiene lugar en la cara interna de la membrana celular, mediante una especie de efecto dominó. Una de las hipótesis más aceptadas establece que el proceso comienza cuando las moléculas de proteína priónica scrapie (PrPsc) (en verde) entran en contacto con las PrP normales (en marrón) (1) e inducen su transformación a PrPsc (2). De esta manera la enfermedad se propaga a medida que las nuevas y viejas PrP continúan su ataque sobre las normales (3) hasta que alcanzan niveles peligrosos. (4).

mentos que consistían en inyectar extractos de cerebro de animales infectados con scrapie a animales sanos, y ver si éstos desarrollaban la enfermedad. Los autores observaron que cuando estos extractos se exponían a luz ultravioleta o a radiaciones ionizantes, que destruyen los ácidos nucleicos, retenían su capacidad de transmitir el scrapie. Sin embargo, cuando los extractos fueron sometidos a tratamientos que desnaturalizan o destruyen las proteínas, la infecciosidad de las muestras disminuyó considerablemente. A partir de esto no quedaron dudas de que el agente infeccioso era una simple proteína, a la cual se denominó proteína priónica (PrP). Diez años después de este discutido hallazgo, se identificaron 15 aminoácidos de la región terminal de la PrP. Gracias a la traducción, según el código genético, se pudo reconstruir la secuencia de nucleótidos de DNA que codificarían ese fragmento; de esta forma se descubrió que en las células normales existe un gen que codifica la proteína priónica completa. Esto significa que todos los seres humanos poseen la proteína priónica, ¿cómo es posible entonces que sólo algunos enfermen y, además, que la enfermedad sea transmisible? La explicación a este hecho se halló cuando se descubrió la existencia de dos formas de la misma proteína, una que genera enfermedad y la otra que no lo hace; la proteína normal se denominó PrP celular (PrPc) y la forma infecciosa recibió el nombre de PrP scrapie (PrPsc). La primera se sintetiza en el retículo endoplasmático, se modifica en el aparato de Golgi y se transporta a la membrana plasmática de las neuronas del sistema nervioso central; la función que cumple aún se desconoce. Tanto la forma infecciosa como la normal poseen la misma secuencia y número de aminoácidos (estructura primaria), pero difieren en la estructura secundaria, o sea la conformación que la proteína adopta en el espacio.

Mediante espectroscopia

ENFERMEDADES PRIÓNICAS DEL SER HUMANO		
ENFERMEDAD	EVOLUCIÓN	EPIDEMIOLOGÍA
Kuru	Pérdida de la coordinación, demencia. Promedio de vida: de tres meses a un año.	Se adquiere por infección, restringido a los Papúa de Nueva Guinea.
Creutzfeldt-Jakob	Demencia y pérdida de la coordinación. Promedio de vida: de un mes a un año.	Forma esporádica, de origen desconocido, la sufre una persona cada millón. Forma hereditaria: mutación en el gen de la PrP, aproximadamente cien familias afectadas. Forma infecciosa: origen iatrogénico, poco frecuente.
Gerstmann-Straussler-Scheinker	Ataxia. Promedio de vida: de dos a seis meses.	Forma hereditaria, presente en aproximadamente 50 familias.
Insomnio familiar fatal	Alteraciones en el sistema nervioso central, insomnio y demencia. Promedio de vida: aproximadamente un año.	Forma hereditaria, se detectó en pocas familias.

infrarroja y dicroísmo circular (métodos muy sensibles para analizar la estructura proteica), se encontró que la PrPc tiene un alto contenido de regiones de alfa-hélice, casi 45%, y sólo 3% de regiones plegadas en hoja-beta, mientras que la forma infecciosa tiene 43% como estructura hoja-beta y 30% de alfa-hélice. El aumento en la PrPsc de regiones hoja-beta la hace insoluble en alto grado y le confiere capacidad para formar depósitos amiloides y para resistir la acción de las proteasas.

Hasta el presente, la estructura terciaria de ambas formas sólo se pudo deducir por métodos computarizados, ya que no fue posible obtener cristales para estudiarlos con difracción de rayos X. Para la PrPc se dedujo un modelo de cuatro regiones alfa-hélice, mientras que para PrPsc se determinó una estructura con dos regiones pequeñas en alfa-hélice y cuatro de hoja-beta.

Malas compañías

La existencia de dos conformaciones para la misma proteína permite explicar las tres formas de adquisición de la enfermedad: por infección, por herencia o por alteración esporádica. Los investigadores proponen que la PrPc presenta varias estructuras; una de ellas sería un intermediario (PrP*), poco estable y parcialmente plegado, que podría convertirse tanto en PrPc (reversible) como en PrPsc (en este caso no hay posibilidad de que vuelva a la forma intermediaria, es un proceso irreversible), o bien el intermediario podría ser degradado. En condiciones normales el intermediario se transforma mucho más fácilmente en PrPc que en PrPsc; sin embargo, la presencia de una sola molécula de PrPsc puede que actúe como catalizador y fuerce la transformación del intermediario en más moléculas de PrPsc. Esto explicaría la patogenia de las formas infecciosas.

En el caso de las formas hereditarias, se estudió el gen de la proteína en aquellas familias que padecen la enfermedad y se descubrió la existencia de aproximadamente 18 mutaciones distintas que llevan a la generación de una PrPc alterada. En este caso se supone que esta forma proteica sería más inestable, lo cual favorecería la formación de

INTRON-A
NUEVA PRESENTACION 25 MUI
SOLUCION LISTA PARA USAR EN MULTIPLES DOSIS

INTRON A®

INTERFERON ALFA-2b, RECOMBINANTE

SEGURIDAD • EFICACIA
ESTABILIDAD • PRACTICIDAD

Cada frasco ampolla liofilizado contiene 3.000.000 UI, 5.000.000 UI, 10.000.000 UI de Interferón alfa 2b recombinante humano.
Cada ampolla de solvente contiene 1 ml de agua destilada para inyectables.



INTRON-A
SOLUCION INYECTABLE

Cada ml contiene 5.000.000 UI de Interferón alfa 2b recombinante humano. Vial x 5 ml= 25 MUI. Cada vial puede fraccionarse hasta 7 veces (0.6 ml/por extracción= 3 MUI) sin que pierda eficacia ni estabilidad. Conservar bajo refrigeración (2°C - 8°C).

- **INMUNOMODULADOR**
- **ANTIPROLIFERATIVO**
- **ANTIVIRAL**
- **MODIFICADOR DE LA RESPUESTA BIOLOGICA**

INDICACIONES

La actividad del Interferón alfa ha sido demostrada en las siguientes afecciones neoplásicas: leucemia a células vellosas, mieloma múltiple, sarcoma de Kaposi asociado a Sida, linfoma no Hodgkin, linfoma cutáneo de células T, micosis fungoide, leucemia mieloide crónica, tumores carcinoides, carcinoma de células basales, tumores endocrinos pancreáticos, cáncer de riñón, cáncer superficial de vejiga, cáncer de ovario. También su acción antiviral ha sido demostrada contra las siguientes infecciones: papilomavirus (condiloma acuminado) y papilomatosis laríngea. Hepatitis crónica B, Hepatitis crónica C y Hepatitis crónica D. Unico interferón aprobado para 18 meses de tratamiento en Hepatitis C.

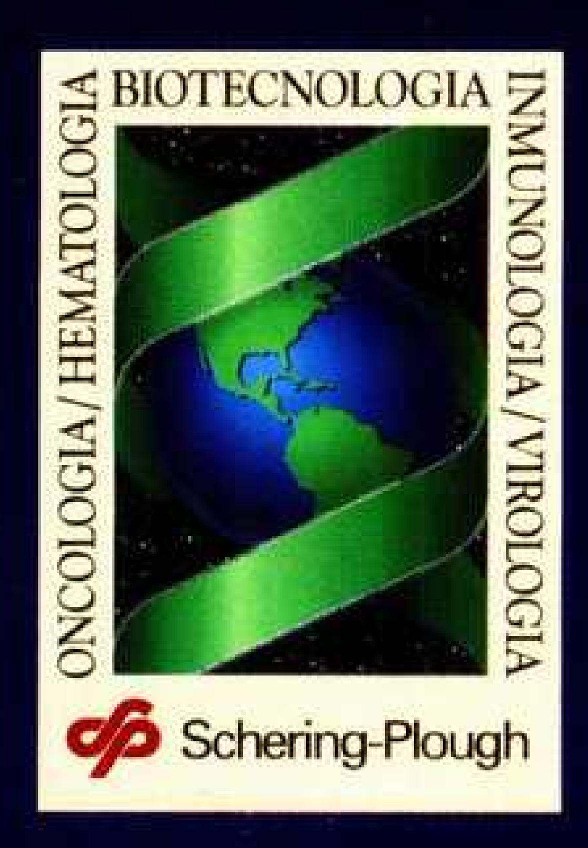
DOSIFICACION

De acuerdo con la indicación y tolerancia del paciente.

CONTRAINDICACIONES

Hipersensibilidad al principio activo. Cardiopatía severa. Epilepsia u otros trastornos funcionales severos del SNC. Insuficiencia hepática grave.

Schering-Plough pone a disposición de los señores profesionales, información inherente a composición, propiedades, posología, indicaciones, contraindicaciones, efectos colaterales y secundarios, precauciones y advertencias. Para mayor información, comunicarse con la División Biotecnología / Oncología Schering-Plough, Teléfono 796-0673.
Elaborado por Schering-Plough, (Brinny) Co., Irlanda y acondicionado por Schering-Plough SA, Av. San Martín 4550, Lomas del Mirador, Provincia de Buenos Aires.





INTR - 5/95

mayor cantidad de PrP* y con ello aumentaría la probabilidad de aparición de una primera molécula de PrPsc, que dispararía una cascada incontenible de transformación de PrPc en PrPsc.

Las enfermedades priónicas esporádicas son más difíciles de explicar, pero se supone que podrían surgir como resultado de altas concentraciones de PrPc, lo que también aumenta la cantidad de intermediario presente, o por una alteración en esta proteína que lleva a la generación de la forma "scrapie". Lamentablemente, aún no se sabe cómo se origina el daño en el nivel cerebral, pero, en experimentos *in vitro* se observó que la transformación de la PrPc a PrPsc se lleva a cabo en los lisosomas de las células neuronales. En el cerebro, los lisosomas que acumulan la PrPsc podrían estallar y provocar la muerte de la neurona, de esta manera se generarían "agujeros" en el cerebro y los priones tendrían la posibilidad de infectar células vecinas.

La proteína priónica se produce en las células normales; sin embargo, aún se desconoce su función biológica.

Con respecto a la infección priónica entre distintas especies, se sabe que son necesarios tiempos de incubación más prolongados para la transmisión inicial y más breves para las que siguen. Como ya se mencionó, en el caso de la forma infecciosa, la PrPsc exógena transforma la proteína normal; esta conversión es más rápida cuando ambas proteínas tienen la misma secuencia de aminoácidos, o sea que pertenecen a la misma especie.

Buscando una cura

Si el modelo de cuatro regiones alfa-hélice para la proteína normal es correcto, se ha pensado que una de las formas de prevenir la enfermedad y frenar su progresión es concebir una droga que pueda unirse simultáneamente a las cuatro hélices, para estabilizar esa conformación e impedir la conversión a la forma infecciosa. Otra de las posibles alternativas profilácticas para el futuro es la terapia genética, con la que se lograría eliminar el gen. En experimentos realizados en animales se comprobó que los ratones sometidos a ese tratamiento permanecieron vivos (o sea que la PrPc no cumpliría una función imprescindible para la vida) y no desarrollaron la enfermedad cuando se les inoculó PrPsc exógena debido a la ausencia de PrPc endógena. Otra estrategia consiste en inocular a los individuos afectados pequeños fragmentos de DNA (oligómeros) cuya secuencia de nucleótidos se complementa con una secuencia presente en el gen que codifica la proteína de interés (secuencia antigén) o en el RNA mensajero de la proteína (secuencia antisentido). En el primer caso, la unión del oligómero al DNA genera un complejo con la doble hélice del gen consistente en una cadena de tres hebras (de allí la denominación de secuencia generadora de triples hélices). Este complejo impide la unión de las proteínas necesarias para iniciar la transcripción (formación de RNA mensajero) y por lo tanto se bloquea la síntesis de la proteína. En el caso de la secuencia antisentido, el oligómero se une directamente al RNA mensajero, lo cual imposibilita la traducción de la secuencia nucleotídica a aminoácidos, y en consecuencia también se inhibe la síntesis de la proteína. Estas nuevas estrategias podrían ser eficaces contra una enfermedad con características muy particulares y temibles.

Los priones provocan enfermedades neurodegenerativas hereditarias, infecciosas o esporádicas.

Referencias

Scientific American
30-37, enero 1995.
50-55, diciembre 1994.
Science
264: 530-531, 1994.
Nature
370: 419-420, 1994.

NUEVAS ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS PARA EL MIELOMA MÚLTIPLE

LAS NUEVAS MODALIDADES DE TRATAMIENTO ENSAYADAS EN LOS ÚLTIMOS AÑOS, COMO LA POLIQUIMIOTERAPIA, EL INTERFERÓN Y LA TERAPÉUTICA DE INTENSIFICACIÓN CON RESCATE MEDULAR, PUEDEN CONTRIBUIR A MEJORAR LOS MAGROS RESULTADOS QUE SE OBTIENEN CON LA QUIMIOTERAPIA SIMPLE CONVENCIONAL.

El mieloma múltiple es una neoplasia progresiva, que se caracteriza por la formación de tumores de células plasmáticas medulares, la sobreproducción de una inmunoglobulina monoclonal intacta (IgG, IgA, IgD o IgE) o proteína de Bence-Jones (cadenas livianas κ o λ monoclonales libres) y que se asocia frecuentemente con lesiones osteolíticas múltiples, hipercalcemia, anemia, daño renal e incremento de la susceptibilidad a las infecciones bacterianas.

El deterioro de la producción normal de inmunoglobulinas se debe a la presencia de un monocito o un macrófago que suprime la maduración de los linfocitos B normales hacia células plasmáticas secretoras de anticuerpos. La incidencia del mieloma se estima en 3 casos por cada 100.000 individuos; afecta por igual a ambos sexos, con preferencia a individuos que superan los 40 años.

Con mucha frecuencia se encuentra compromiso de la pelvis, la columna, las costillas y el cráneo. Las radiografías pueden mostrar una osteoporosis difusa o lesiones osteolíticas discretas, debidas a la sustitución por tumores expansivos de células plasmáticas o a un factor, denominado activador de los osteoclastos, secretado por las células plasmáticas malignas. Por lo general múltiples, las lesiones osteolíticas en ocasiones pueden aparecer como una masa intramedular solitaria. Los plasmocitomas extraóseos son poco habituales, pero pueden aparecer en cualquier órgano, en especial en el tracto respiratorio. Las formaciones a distancia en los túbulos renales, la atrofia de las células epiteliales tubulares y la fibrosis intersticial pueden dar como resultado una insuficiencia renal (riñón de mieloma). En 10% de los pacientes la patología da lugar a la aparición de depósitos amiloides, en especial en aquellos con proteinuria de Bence-Jones.

En 55% de los pacientes con mieloma los tumores de células plasmáticas producen IgG y en 20% sintetizan IgA; 40% de estos pacientes productores de IgG e IgA también tienen proteinuria de Bence-Jones. El mieloma de cadenas livianas se encuentra en 15% a 20% de los pacientes; sus células plasmáticas secretan solamente cadenas livianas monoclonales libres (proteína de Bence-Jones κ o λ) y en la electroforesis habitualmente están ausentes los componentes séricos M. El subgrupo de cadena liviana tiende a tener una mayor incidencia de lesiones óseas osteolíticas, hipercalcemia, insuficiencia renal y amiloidosis que otros pacientes con mieloma. El mieloma de IgD se encuentra en aproximadamente 1% de los casos; los niveles séricos con frecuencia son relativamente bajos y es característica la proteinuria de Bence-Jones pesada (80% a 90% de tipo λ). Sólo se informaron unos pocos casos de mieloma de IgE, y el mieloma no secretor (componente M no identificable en suero u orina) es muy raro (< 1% de los casos).

Las presentaciones más frecuentes del mieloma incluyen el dolor esquelético inexplicable y persistente (en especial en la parte posterior del tórax), la insuficiencia renal o las infecciones bacterianas recurrentes (con predominio de las neumonías neumocócicas). En algunos pacientes el dato preponderante es la asociación de anemia con debilidad y fatiga, y en unos pocos casos un síndrome de hiperviscosidad. Por desgracia, las fracturas patológicas y los

colapsos vertebrales son bastante comunes; los últimos pueden llevar a la compresión de la médula espinal y a la paraplejía. También son frecuentes la linfadenopatía y la hepatoesplenomegalia.

En los pacientes con mieloma el examen físico en general no es útil, a menos que se encuentre dolor óseo o palidez. Los hallazgos de laboratorio incluyen una anemia normocrómica normocítica con cúmulos en forma de pila de monedas evidentes en los extendidos de sangre periférica. Habitualmente, los recuentos de células blancas y plaquetas son normales, la eritrosedimentación se encuentra marcadamente elevada (>100 mm/hora, *Westergren*), con elevaciones frecuentes del nitrógeno ureico plasmático, la creatinina y el ácido úrico séricos. Una "brecha aniónica" baja, que se presenta en algunos pacientes, puede resultar una clave diagnóstica útil. La hipercalcemia se presenta en casi un tercio de los pacientes. Los niveles séricos de microglobulina β_2 con frecuencia se encuentran elevados y se correlacionan con la masa celular del mieloma.

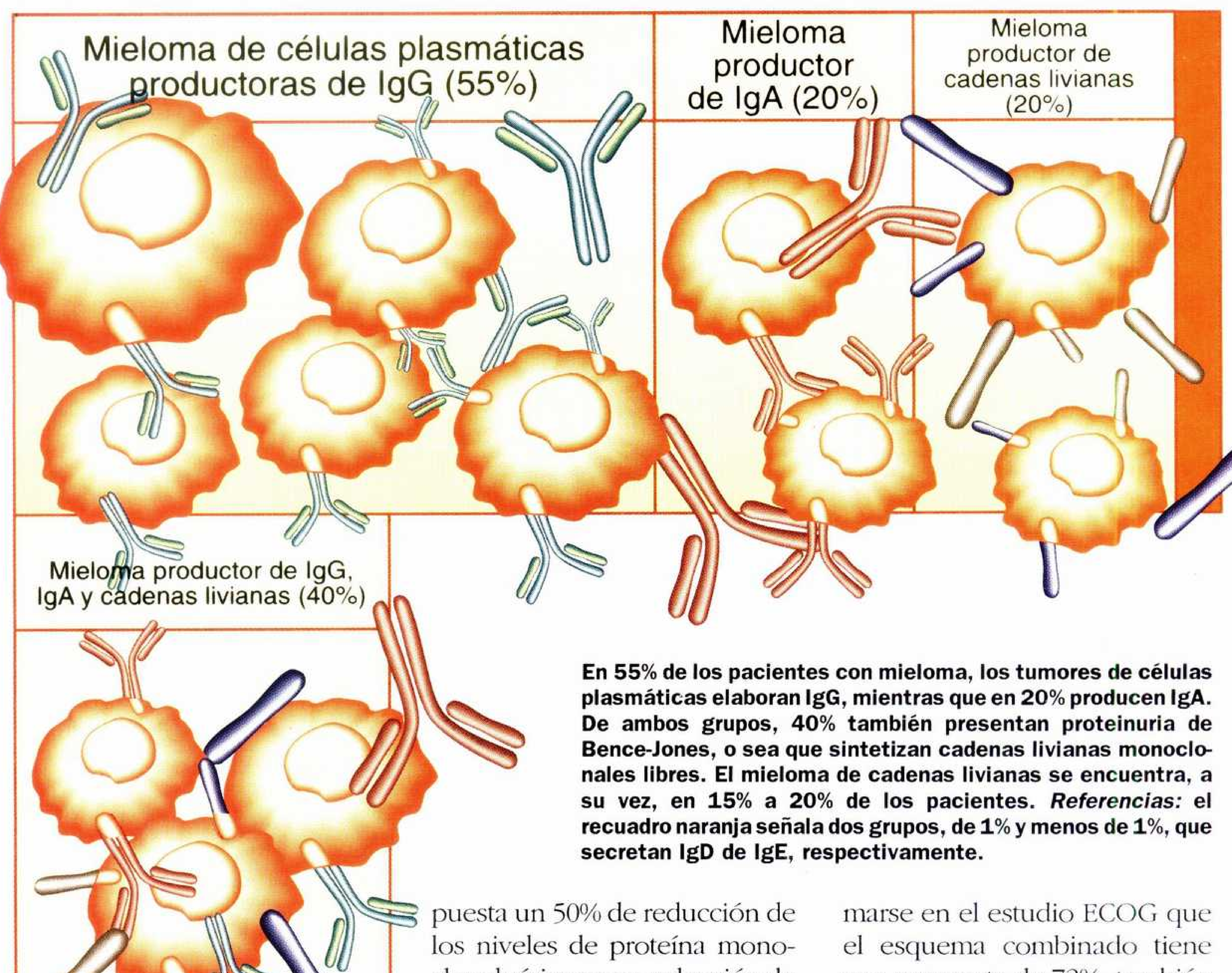
La proteinuria es un hallazgo común debido al exceso de síntesis y secreción de cadenas livianas monoclonales libres. Es muy raro que ocurra una albuminuria significativa en el mieloma; su presencia sugiere una amiloidosis coexistente o una enfermedad por deposición de cadenas livianas. Para la detección de una proteinuria significativa resulta más adecuada la determinación cuantitativa de proteína urinaria de 24 horas. No se dispone de tiras reactivas para la detección urinaria de la proteína de Bence-Jones y con frecuencia la prueba de calor da resultados erróneos, por lo que las únicas pruebas de detección útiles son las que se realizan con los ácidos sulfosalicílico y toluensulfónico. La electroforesis de las proteínas séricas muestra una espícula M homogénea, elevada y estrecha, en alrededor de 80% de los casos; la movilidad de la espícula puede situarla en cualquier lugar desde la región α_2 hasta la región γ lenta. El restante 20% de los pacientes sintetiza cadenas livianas monoclonales libres solamente y sus patrones electroforéticos séricos muestran hipogammaglobulinemia sin una espícula monoclonal. Sin embargo, en prácticamente todos los pacientes con mieloma de cadena liviana la electroforesis proteica de orina concentrada muestra una espícula homogénea M. La identificación de la clase de inmunoglobulina que refleja la espícula monoclonal, tanto en suero como en orina, se realiza mediante inmunoelectroforesis o inmunofijación con antisueros monoespecíficos.

Las radiografías óseas pueden mostrar las típicas lesiones líticas en sacabocado o una osteoporosis difusa. Las lesiones osteoblásticas son raras, lo que torna poco útiles los exámenes óseos mediante radionúclidos. Habitualmente, la médula ósea contiene un mayor número de células plasmáticas en varios estadios de maduración; es muy raro que el número de estas células se mantenga normal. La morfología de las células plasmáticas no se correlaciona con la clase de inmunoglobulina sintetizada. Aunque las láminas y cúmulos de células plasmáticas son diagnósticas de los tumores medulares, el mieloma es una enfermedad en forma de parches y, con frecuencia, solamente se observa inicialmente una modesta plasmocitosis no específica.

La enfermedad es progresiva, pero un manejo óptimo mejora tanto la calidad como la duración de la vida. La expectativa de vida se relaciona con la extensión de la enfermedad en el momento del diagnóstico, la adecuación de las medidas de sostén y la respuesta a las drogas. Casi 60% de los pacientes tratados muestra mejorías objetivas y entre los que responden al tratamiento la supervivencia media es de 2,5 a 3 años. Los altos niveles de proteína M en suero u orina, los valores elevados de microglobulina β_2, las

TRATAMIENTO DEL MIELOMA: RESULTADOS DE LA TERAPIA ESTÁNDAR (MELFALÁN CON PREDNISONA O SIN ELLA), EN COMPARACIÓN CON LA QUIMIOTERAPIA COMBINADA

	Supervivencia media (meses)	Supervivencia media (meses)	Nivel de respuesta
Melfalán (+ prednisona)	25	18%	51%
Quimioterapia combinada	32	25%	72%



En 55% de los pacientes con mieloma, los tumores de células plasmáticas elaboran IgG, mientras que en 20% producen IgA. De ambos grupos, 40% también presentan proteinuria de Bence-Jones, o sea que sintetizan cadenas livianas monoclonales libres. El mieloma de cadenas livianas se encuentra, a su vez, en 15% a 20% de los pacientes. *Referencias:* el recuadro naranja señala dos grupos, de 1% y menos de 1%, que secretan IgD de IgE, respectivamente.

lesiones óseas difusas, la hipercalcemia, la pancitopenia y la insuficiencia renal son signos desfavorables.

Más allá de las características generales de la enfermedad, que no han sufrido mayores modificaciones desde sus primeras descripciones, en los últimos tiempos se está presenciando un importante cambio en cuanto a la modalidad de tratamiento del mieloma. Durante muchos años el tratamiento estándar consistió fundamentalmente en la quimioterapia con ciclos intermitentes de melfalán y prednisona. Este esquema es de fácil administración y produce respuesta en 50% de los casos (tomando como criterio de respuesta un 50% de reducción de los niveles de proteína monoclonal sérica o una reducción de por lo menos 90% de la excreción urinaria de cadenas livianas), que se prolonga durante un promedio de 30 meses durante los cuales se desarrolla una prácticamente inevitable resistencia a la terapéutica.

Un esquema combinado, propuesto por el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center de Nueva York, incluye vincristina, BCNU, melfalán, ciclofosfamida y prednisona (VBMCP), administrados en ciclos de tratamiento de 5 semanas. Debido a los prometedores resultados de este trabajo (78% de respuesta y supervivencia promedio de 38 meses), el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) realizó un estudio controlado por selección al azar de este esquema comparado con el de melfalán-prednisona. Pese a confirmarse en el estudio ECOG que el esquema combinado tiene una respuesta de 72%, también se evidenció que no eleva la supervivencia promedio más allá de 28 a 30 meses.

Por su parte, dos importantes trabajos clínicos sobre mieloma compararon esquemas de quimioterapia combinada de intensidad moderada con melfalán o melfalán-prednisona. Uno de ellos, llevado adelante por el Southwest Oncology Group (SWOG), administró ciclos de 3 semanas de vincristina, melfalán, ciclofosfamida y prednisona, alternando con vincristina, BCNU, doxorrubicina y prednisona (VMCP/VBAP). El otro trabajo, realizado por el Medical Research Council of Great Britain (MRC), evaluó un régimen similar pero carente de vincristina y prednisona (ABCM) contra melfalán solo. Estos dos estudios arrojaron resultados simila-

res en cuanto a un mayor nivel de respuesta y a una supervivencia más prolongada con el tratamiento combinado.

Los resultados combinados de los tres últimos trabajos, ECOG, SWOG y MRC, con más de 1.300 pacientes evaluados, indicaron que la supervivencia promedio, la supervivencia a 5 años y el nivel de respuesta mejoraron con el tratamiento combinado en comparación con el clásico. Sin embargo, las ventajas no llegaron a ser demasiado importantes, lo que dejó espacio a mayor investigación.

Entre los fármacos que se investigaron figuran el interferón alfa leucocitario y el interferón alfa recombinante, pese a que sólo 10 a 20% de los mielomas refractarios o no tratados previamente respondieron a ellos cuando se los utilizó como agentes simples. Existen tres formas básicas de administración del interferón: 1) simultáneamente con la quimioterapia, 2) en alternancia con la quimioterapia y 3) como terapia de mantenimiento una vez concluida la quimioterapia o luego del trasplante de médula.

En 1993 un estudio sueco puso en evidencia una respuesta ventajosa en los mielomas tratados con melfalán-prednisona más interferón, en relación con la quimioterapia sola. Por su parte, el grupo ECOG estudió la alternancia entre VBMCP e interferón, en un estudio de fase II no aleatorizado, y aunque se obtuvo un nivel de respuesta que no difería sustancialmente del de la quimioterapia sola (80%) verificado en otros estudios, 30% de los pacientes tuvieron respuesta completa y 16% estuvieron a punto de obtenerla. Se espera que en el transcurso de este año se publiquen los resultados de un estudio al azar que compara VBMCP más interferón contra VBCMP sola. Como terapia de mantenimiento, al cabo de 6 meses a 1 año de inducción quimioterapéutica, la característica positiva del interferón que se manifestó con más constancia fue el incremento en el tiempo de progresión. En cuanto a la terapia de mantenimiento con interferón, luego de quimioterapia seguida por altas dosis de melfalán y trasplante de médula ósea autólogo, se observó un aumento significativo del tiempo de supervivencia libre de recaídas, así como un beneficio en el promedio de supervivencia.

Una modalidad que permite erradicar los clones de mieloma, o por lo menos reducirlos lo suficiente como para posibilitar la prolongación de la remisión, consiste en la quimioterapia en altas dosis o quimiorradioterapia seguida de alguna forma de rescate medular (trasplante medular alogénico, autólogo o singénico). Un informe preliminar del año 1993, del Intergrupo Francés de Mieloma, informó 24% de remisión completa en el grupo con trasplante, en comparación con 2% en los pacientes que sólo fueron tratados con quimioterapia. La supervivencia libre de enfermedad también favorece al grupo con trasplante con 50% contra 14%. En los EE.UU. comenzó recientemente un trabajo aleatorizado, controlado y multicéntrico tendiente a comparar la quimioterapia estándar con la quimioterapia más quimiorradioterapia de intensificación, del cual se espera que pueda aportar alguna luz en la determinación de las ventajas de la terapia de intensificación más el rescate de células progenitoras en aquellos pacientes con mejor perfil de riesgo para trasplante.

EN PACIENTES CON COMPONENTE SÉRICO M, CUALQUIERA DE LOS SIGUIENTES HALLAZGOS ES UN CRITERIO DIAGNÓSTICO DE MIELOMA

- Láminas o cúmulos de células plasmáticas medulares
- Lesiones osteolíticas (sin evidencia de carcinoma metastásico o enfermedad granulomatosa)
- Proteinuria de Bence-Jones > 300 mg/24 horas

INCONVENIENTES DEL ESQUEMA MELFALÁN-PREDNISONA

- Falla precoz del tratamiento, que se manifiesta por rebrote, progresión o muerte dentro de los primeros 12 a 18 meses.
- Sólo 20% de los pacientes alcanza los 5 años de supervivencia.
- El régimen es leucemógeno. La leucemia o un síndrome mielodisplásico aparecen en una 5ta. parte de los sobrevivientes en el largo plazo.

REFERENCIAS

Contemporary Oncology *Otoño 1994*: 14-17.
Wien Klin Wochenschr (AUSTRIA) *106*: 448-454, 1994.

MOTORES DE MICROTÚBULOS Y MOVIMIENTO

Existen proteínas motoras que posibilitan la dinámica celular y el mecanismo por el que ejercen su acción comienza a conocerse.

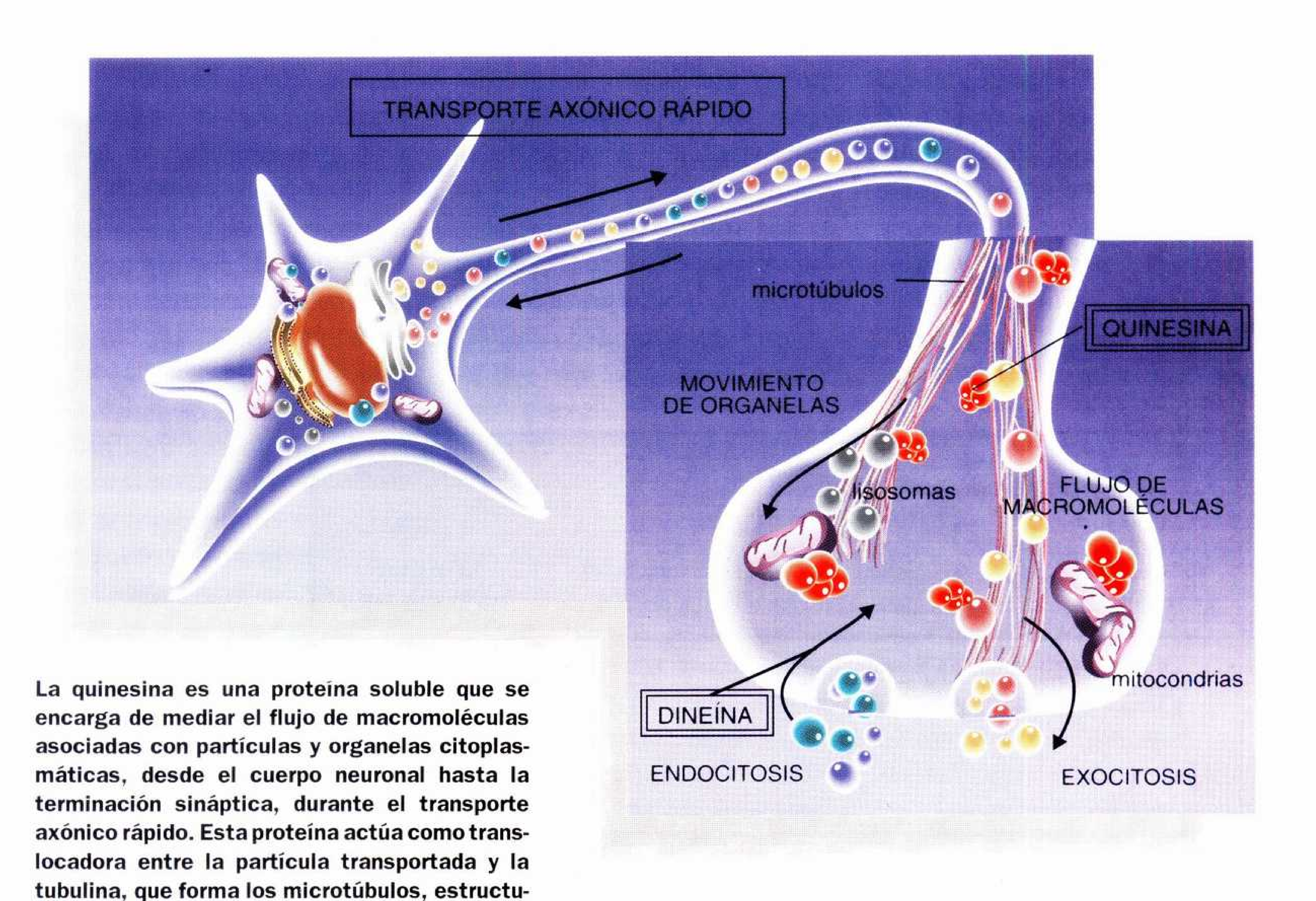
Las propiedades coloidales de la célula, como las transformaciones básicas de sol a gel, las modificaciones en la viscosidad, el movimiento intracelular (ciclosis), el movimiento ameboide, la formación del huso y el clivaje dependen fundamentalmente de la matriz citoplasmática. La mayoría de las células eucariontes tienen un citoesqueleto formado por microtúbulos y microfilamentos. Éstos intervienen en numerosas funciones que requieren movimiento, ejercen una función mecánica como citoesqueleto, son responsables de la forma celular, influyen en las prolongaciones celulares (características del proceso de diferenciación celular), determinan la polaridad y el desplazamiento direccional de las células; además intervienen en la formación y contracción del huso, en el movimiento de los cromosomas y los centríolos, e intervienen en el movimiento flagelar y ciliar entre otros.

Pero... todo movimiento tiene su motor. Este concepto fundamental encontró sustento en el hallazgo del sistema actina-miosina, involucrado en el mecanismo de contracción de los tejidos no musculares, la ciclosis y el movimiento ameboide. La interacción entre la actina y la miosina (en forma similar al músculo) provoca la fuerza de desplazamiento. La distribución irregular de los filamentos y la menor concentración de miosina explican la lentitud de la contracción, que requiere ATP y ATPasa activada por calcio. El descubrimiento de las moléculas motoras quinesina y dineína citoplasmática agregó dos sistemas de movilidad diferentes al bien conocido sistema actina-miosina.

La quinesina es una proteína soluble que interviene en el transporte axónico rápido, encargado del flujo de macromoléculas asociadas a partículas y organelas membranosas —principalmente vesículas o sus precursores— desde el cuerpo neuronal a la terminación sináptica. Se desplazan por un tracto formado por microtúbulos orientados en sentido longitudinal, a la manera de rieles de un ferrocarril. Al incubar partículas, ATP y microtúbulos purificados no se observa transporte rápido; éste aparece cuando a la preparación se agrega el sobrenadante. La quinesina actúa como translocadora entre la partícula transportada y la tubulina (unidad estructural del microtúbulo), al adosarse a superficies cargadas negativamente (partículas) en forma estable.

En un experimento realizado recientemente se descubrió que en realidad la quinesina se une en forma irreversible a las organelas que se mueven hacia el extremo de crecimiento rápido (+) del microtúbulo, y que la quinesina soluble y los factores accesorios no son necesarios para el movimiento de organelas en este extremo.

La dineína fue descubierta como una ATPasa responsable de la movilidad de cilios y flagelos. De hecho, en el ser humano existe un síndrome de origen genético en el cual los cilios y los flagelos no se mueven por falta de dineína. Como los microtúbulos están distribuidos por todo el citoplasma, fue lógico especular con que la dineína fuera responsable de más formas de movimiento asociadas con los microtúbulos. Conocida como proteína asociada a microtúbulos 1c (MAP 1c), la dineína citoplasmática se une a ellos en ausencia de GTP; tiene actividad ATPasa y provoca un movimiento o fuerza a lo largo y hacia el extremo de proliferación lento (-) del microtúbulo. En los axones corresponde al transporte axonal retrógrado y en las células indiferenciadas representa la dirección desde la periferia de la célula



La quinesina es una proteína soluble que se encarga de mediar el flujo de macromoléculas asociadas con partículas y organelas citoplasmáticas, desde el cuerpo neuronal hasta la terminación sináptica, durante el transporte axónico rápido. Esta proteína actúa como translocadora entre la partícula transportada y la tubulina, que forma los microtúbulos, estructuras que se orientan en sentido longitudinal y constituyen verdaderos rieles de desplazamiento molecular. La quinesina se une a las organelas, que se mueven hacia el extremo de crecimiento rápido del microtúbulo, en forma irreversible y promueve su movilidad, necesaria para que se produzca la exocitosis celular. La dineína, en cambio, parece ser la responsable del transporte axonal retrógrado, ya que provoca un movimiento hacia el extremo de proliferación lento del microtúbulo, lo que la hace fundamental en los mecanismos de endocitosis.

hacia el núcleo. Cada cabeza de dineína contiene una cadena pesada, que corresponde al sitio donde se hidroliza el ATP. El transporte retrógrado fue inhibido por vanadato y un análogo de adenosina, EHNA, ambos inhibidores de la movilidad provocada por la dineína citoplasmática y su actividad ATPasa.

Estos resultados sugieren que el mecanismo de transporte axonal bidireccional de organelas puede explicarse por la asociación de la dineína citoplasmática y la quinesina con vesículas que se mueven en direcciones retrógrada y anterógrada, respectivamente.

¿Utilizan los mismos mecanismos quimiomecánicos los sistemas actina-miosina y microtubulares motores? Si bien esta idea es atractiva, existen diferencias entre ellos. Las proteínas motoras se mueven unidireccionalmente a lo largo del citoesqueleto polimerizado, por translocación acoplada de ciclos de hidrólisis de ATP. La energía del ATP se necesita para generar la fuerza y la disociación del complejo filamentoso motor, para comenzar un nuevo ciclo. Para la miosina la fuerza productiva está asociada con la liberación del fosfato seguida de hidrólisis del ATP (M-ADP), mientras que la disociación de actina-miosina está estrechamente ligada a la unión de ATP. La dineína usa un ciclo similar, lo que sugiere que todos los motores citoesqueléticos pueden operar mediante un mismo mecanismo. Sin embargo, la quinesina unida al ADP es disociada de los microtúbulos durante la translocación, mientras que con el nucleótido no hidrolizado (K-ATP) mantiene su asociación con el polímero. Por lo tanto, es evidente que la quinesina convierte la energía de ATP en trabajo mecánico por una vía diferente de la utilizada por la miosina o la dineína.

¿Cómo usa entonces la quinesina la unión energética del ATP? Una posibilidad es que la energía puede acumularse en una proteína para usarla más tarde en el ciclo. En forma alternativa, la unión de ATP puede ser directamente acoplada al trabajo mecánico.

QUINESINA		MIOSINA	
Estado del nucleótido	**Afinidad microtubular**	**Estado del nucleótido**	**Afinidad microtubular**
Q	fuerte	M	fuerte
Q-ATP	fuerte	M-ATP	débil
Q-ADP-Pi	fuerte	M-ADP-Pi	débil
Q-ADP	débil	M-ADP	fuerte

Mitosis:
Continuo movimiento

La quinesina y la dineína citoplasmática fueron descubiertas hace una década como proteínas capaces de generar fuerza para el movimiento a lo largo de los microtúbulos. Ulteriormente se identificaron más proteínas motoras de microtúbulos en el manejo de varios tipos de movimientos incluidos los asociados con la mitosis. Queda claro ahora que los motores de microtúbulos no sólo son necesarios para el movimiento de los cromosomas sino también para el ensamblaje y organización del aparato mitótico.

Durante la profase, en el núcleo se produce la condensación de las cromátides y el núcleo se desintegra. El fenómeno citoplasmático más destacable es la formación del huso (relacionada con la existencia de centríolos). El huso es una compleja y dinámica estructura microtubular bipolar. El armado de los microtúbulos es controlado por los polos y también por los cinetocoros. El extremo de proliferación lenta (-) del microtúbulo es siempre proximal al polo. Durante la metafase las fibras del huso invaden el área central. Algunos microtúbulos se unen por su extremo de crecimiento rápido a los cinetocoros de los cromosomas condensados, los que oscilan hacia adelante y hacia atrás y migran hacia el ecuador del huso, donde permanecen en metafase con sus cinetocoros mirando hacia los polos opuestos. Otros microtúbulos forman las fibras continuas que se extienden de polo a polo. Muchas fuerzas parecen mantener el huso en metafase, el equilibrio entre las que logran mantener los cromosomas en el ecuador y otras que determinan la localización del huso en los polos. La dineína está involucrada en los estadios tempranos de la agregación cromosómica alrededor de los polos. Durante la mitosis el transporte por endocitosis en la membrana se detiene. Tal vez ello refleja la liberación de la dineína citoplasmática de las membranas de las organelas al tiempo en que aparece asociada a los cinetocoros. Una proteína igual a la quinesina —la Eg5— se localiza a lo largo de los microtúbulos del huso y particularmente cerca de los polos. Esta proteína participa en la morfogénesis del huso en metafase y su función motora tiene como blanco el extremo de crecimiento rápido del microtúbulo. Es un motor más lento *in vivo* que la quinesina. Para lograr un flujo tubular normal y el huso dinámico de metafase se requiere que el extremo negativo del microtúbulo sea lábil, para que al despolarizarse sean incorporadas nuevas subunidades de tubulina al extremo de crecimiento rápido. La proteína Eg5 favorece esa labilidad; se une por su dominio motor a los microtúbulos y por el dominio de la cola al sistema filamentoso centrosómico, y su acción consiste en extender los filamentos hacia el extremo positivo. Antes de la anafase la Eg5 puede ayudar a mantener la organización y el ensamblaje ejerciendo una fuerza directa hacia el polo sobre los microtúbulos antiparalelos, como una fuerza opuesta que empuja a los polos a juntarse. La proteína Eg5 es idéntica a la LH 145, una proteína parecida a la

quinesina identificada previamente. La CENP-E (proteína del centrómero E) y la MKLP1 *(mitotic kinesin-like protein)*, miembros de la superfamilia de las proteínas similares a la quinesina, poseen el característico dominio motor en la estructura espiralada de la región α-hélice, que en el caso de la CENP-E es cuatro veces más larga en comparación con las regiones α-hélices de otras proteínas de la familia.

Durante la anafase, la separación de los centrómeros —que se produce en forma simultánea en todos los cromosomas— rompe el equilibrio de fuerzas característico de la metafase. Los microtúbulos de las fibras cromosómicas del huso se acortan a la tercera o quinta parte de su longitud original. Al mismo tiempo, aumenta la longitud de los microtúbulos de las fibras continuas, algunas de las cuales constituyen las denominadas fibras interzonales que permanecen hasta la telofase. La CENP-E se une al cinetocoro durante la prometafase y la metafase, pero en la anafase se transloca asociada a las fibras interzonales. Esta proteína es sintetizada en fase S tardía del ciclo celular y cuando la mayoría de las células completaron el proceso mitótico, permanece sólo 20% de la CENP-E sintetizada. O sea que su presencia en la célula se restringe a la fase M, que es cuando se la necesita. La CENP-E interactúa con los microtúbulos en forma directa e indirecta por medio de un sitio insensible a los nucleótidos y parece ser uno de los motores responsables del movimiento cromosómico y de la elongación del huso.

La MKLP1 nunca fue hallada en los cinetocoros, pero se restringe a las fibras interzonales durante la anafase. Produce puentes cruzados *in vivo* entre microtúbulos antiparalelos, y en presencia de Mg-ATP los microtúbulos se deslizan unos sobre otros en un modo que recuerda los movimientos microtubulares durante la elongación del huso. Su secuencia de aminoácidos revela una señal putativa de localización nuclear cerca del extremo amino-terminal. Esta característica propia de las proteínas nucleares permite su contacto con los microtúbulos sólo durante la mitosis, cuando la envoltura nuclear se ha desintegrado. La observación de que los anticuerpos contra la MKLP1 inhiben la progresión de la mitosis, y el hecho ya citado de que esta proteína puede unirse y formar ligamentos entre microtúbulos antiparalelos, indica que la MKLP1 puede desempeñar un papel clave en la elongación del huso durante la anafase B.

Se descubrió un complejo proteico, que se une al DNA centromérico el cual presenta una actividad motora que ejerce una fuerza a lo largo del microtúbulo hacia el extremo de menor crecimiento (-). La identidad de este complejo polipeptídico se desconoce.

La proteína NuMa *(nuclear mitotic apparatus protein)* es abundante en el núcleo de células en interfase y durante la mitosis se concentra en la región polar del huso. Es el primer componente no microtubular importante para el establecimiento y estabilización del aparato mitótico en organismos multicelulares. La formación y el mantenimiento del aparato mitótico requiere un complejo y equilibrado interjuego de varios mecanismos, entre los cuales la acción de los motores de los microtúbulos adquiere un protagonismo esencial. Las proteínas Eg5, CENP-E, MKLP1 y NuMa, entre otras, tienen una importancia ya demostrada, si bien no se conocen todas sus funciones, la profundización de su estudio depara aún muchas sorpresas.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Journal of Clinical Investigation
96 : 69-77, 1995.
Toxicology and applied Pharmacology
133 : 73-81, 1995.

REFERENCIAS

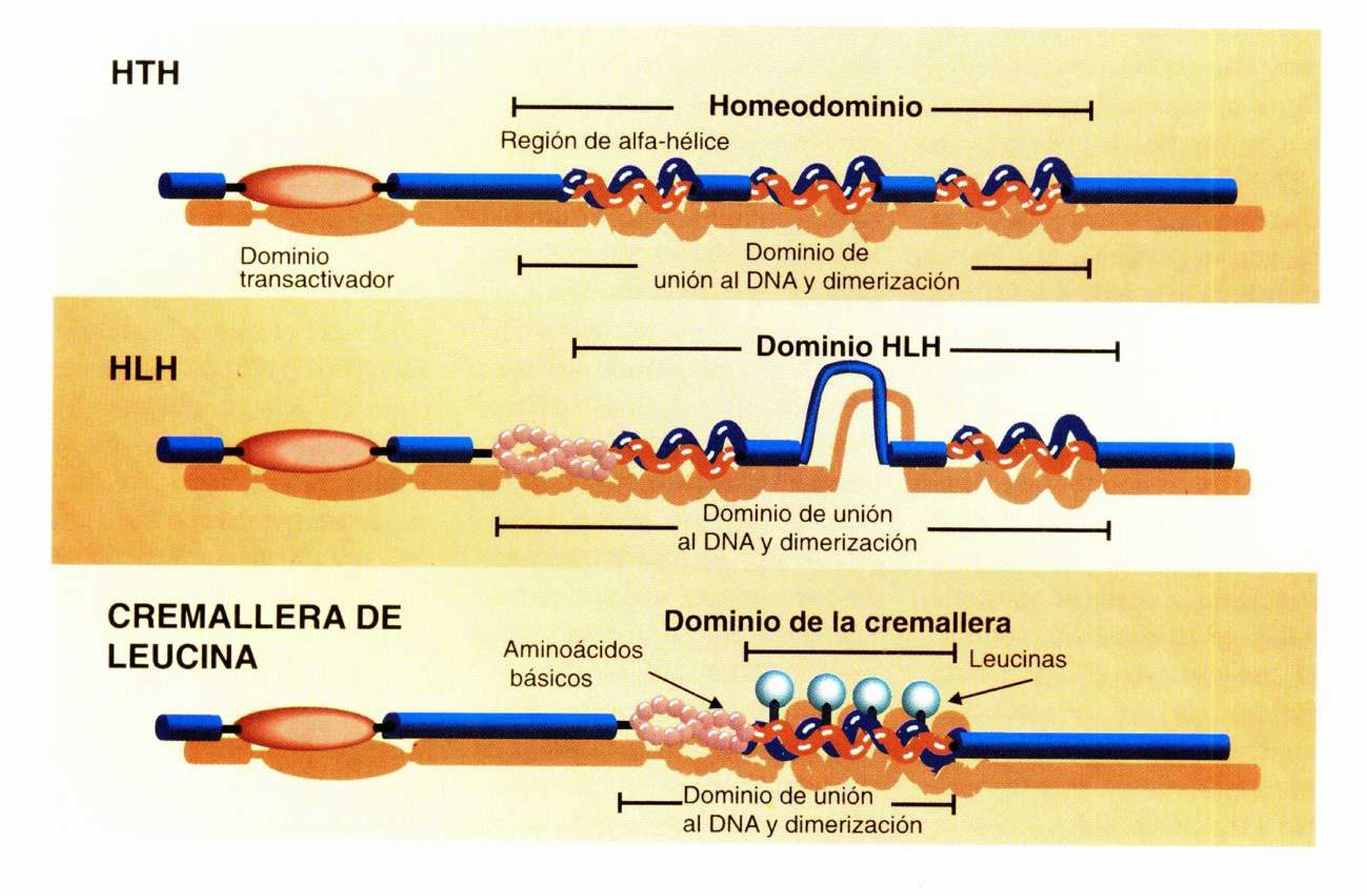
Nature
361 : 115-116,168-170, 1993.
359 : 480-482, 536-539, 540-543, 543-547, 1992.
Mollecular Biology of the Cell
3 : 1259-1267, 1992.
The Journal of Cell Biology
119 : 389-399, 1992.
Trends in Cell Biology
1 : 25-29, 1991.

PAPEL DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN EN LA EXPRESIÓN GENÉTICA

LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN SON ESENCIALES PARA EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO NORMALES DEL EMBRIÓN Y DEL NIÑO, PARA LA DIFERENCIACIÓN CELULAR NORMAL Y PARA UN GRAN NÚMERO DE RESPUESTAS CELULARES A LOS ESTÍMULOS EXTERNOS. LOS AVANCES REGISTRADOS EN LA GENÉTICA MOLECULAR PERMITIRÁN DETECTAR MÁS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN ANORMALES EN MUCHOS TRASTORNOS.

La regulación de la expresión genética es un componente fundamental del complejo de instrucciones necesario para construir y mantener un organismo vivo. La transcripción de los genes del RNA ribosómico y de transferencia son constitutivas (por ejemplo, la síntesis de esas variantes de RNA en las células en interfase es continua). Sin embargo, la transcripción del RNA mensajero es ampliamente regulada y específica para cada tipo de célula. Aunque todas las células de un individuo tienen (esencialmente) el mis-

Representación esquemática de tres de los principales factores de transcripción y sus interacciones con el DNA. Se incluye un dominio de transactivación, ligado al que se une al DNA y permite la dimerización. *Referencias*: HTH: hélice-giro-hélice; HLH: hélice-bucle-hélice.



mo contenido de DNA, los diferentes tipos celulares varían tanto en morfología como en función, como resultado directo de la expresión genética diferencial. Pese a que la temática a desarrollar aquí está enfocada a la regulación de la expresión genética en el nivel transcripcional (desde el RNA al DNA), es importante aclarar que la expresión genética puede regularse en cualquiera de los pasos desde la transcripción hasta el procesamiento y puesta en circulación del producto proteico final. En cualquiera de estos pasos pueden producirse errores, y las mutaciones, que afectan de manera adversa a cada uno de ellos, con variados trastornos genéticos.

La transcripción es un proceso complejo que se desarrolla en 5 etapas: 1) unión de la RNA-polimerasa a las regiones promotoras del DNA, 2) apertura de las dobles hélices de DNA, 3) iniciación de la síntesis de RNA, 4) alargamiento de la cadena de RNA, y 5) terminación de la síntesis de RNA por liberación de la RNA-polimerasa y de la nueva hebra de RNA de la plantilla de DNA. Sobre la base de los estudios experimentales realizados hasta la fecha, el control transcripcional más común aparece en la regulación de la unión de la RNA-polimerasa al promotor.

Cromatina

Para que la RNA-polimerasa transcriba un gen específico, esa región del DNA debe ser accesible a ella y a otras moléculas reguladoras. Por otra parte, para que un gen sea accesible a esa proteína reguladora pareciera que la estructura cromatínica, que habitualmente mantiene al DNA en una configuración altamente compacta, debe estar, en alguna medida, desenrollada. El cambio en el estado de la cromatina en un gen particular puede monitorearse por su susceptibilidad al clivaje por DNasa, una endonucleasa que corta la doble hélice de DNA. La sensibilidad a la DNasa indica la presencia de una estructura cromatínica más abierta, menos condensada, que permite un mayor acceso al DNA.

Metilación del DNA

La modificación del DNA por metilación se asocia con la inactivación transcripcional. El mecanismo de esta represión no se conoce bien; puede deberse a cambios en la estructura de la cromatina o al bloqueo de la unión de la RNA-polimerasa o de los factores de transcripción. El ejemplo más prominente de metilación que afecta la activación genética tiene lugar durante la inactivación del cromosoma X en las hembras, en las cuales 1 de los 2 cromosomas X es ampliamente metilado y está casi completamente silencioso en el orden transcripcional.

Factores de transcripción y elementos de control transcripcional

La RNA-polimerasa de las células eucariontes no es suficiente por sí sola para iniciar la transcripción, pero puede formar complejos con proteínas accesorias o con factores de transcripción. Adicionalmente, los factores de transcripción específicos (proteínas reguladoras de genes) interactúan con el complejo RNA-polimerasa o le envían una señal para iniciar o reprimir la transcripción de un gen en particular. Cualquier proteína, diferente de la RNA-polimerasa, que regule la iniciación de la transcripción se define como un factor de transcripción. Muchos de estos factores son proteínas, unidas a secuencias específicas de DNA, que se ligan directamente a los genes que regulan. Los receptores de glucocorticoides y de vitamina D son ejemplos de estos factores reguladores nucleares.

Los factores de transcripción no actúan en forma aislada. Por el contrario, conforman redes reguladoras en las cuales varios factores interactúan para regular la transcripción genética.

Las secuencias de un gen que reconoce y se une a los factores de transcripción por lo general son segmentos cortos (10 a 30 pares de bases) de secuencias de DNA o de ele-

mentos de respuesta del DNA. Estos elementos secuenciales en general caben en dos categorías, promotores y amplificadores.

La fosforilación, desencadenada por señales bioquímicas provenientes de los receptores de la superficie celular, constituye un medio común de alterar la función de los factores de transcripción.

En la región promotora del gen se une la RNA-polimerasa. Cada uno de los tres tipos de RNA-polimerasa reconoce distintos tipos de promotores. Los elementos secuenciales de DNA dentro de cada categoría de promotor son diferentes, asimismo difiere la organización de cada tipo de promotor. Las regiones promotoras para los genes de clases I y II se encuentran localizadas en la zona 5' de los flancos, inmediatamente por encima del sitio de partida de esos genes. Los promotores de los genes de clase III se ubican dentro de la región de codificación genética. Vale aclarar, nuevamente, que esta nota se centra sólo en los genes de clase II.

La región promotora es una zona de DNA con 100 a 200 pares de bases, pero dentro de ella no todas las secuencias tienen la misma importancia funcional. Las mutaciones o las sustituciones de bases en algunas posiciones dentro de la región promotora no tienen efecto sobre su función. De cualquier manera, las regiones específicas o los elementos secuenciales de DNA requieren una secuencia específica para que la RNA-polimerasa o los factores reguladores se unan. Las alteraciones de estas secuencias de DNA disminuirán la eficacia de la iniciación de la transcripción o la bloquearán por completo.

La región promotora de cada gen es diferente y característica. No obstante, un rasgo común de muchos promotores de clase II (aunque no de todos), es la presencia de un elemento secuencial de DNA denominado TATA box, rico en timinas (T) y adeninas (A), que liga una proteína accesoria de la RNA-polimerasa conocida como TBP (TATA *binding protein*) o TFIID (*transcription factor* IID). La RNA-polimerasa II no se une directamente al DNA, pero sí a la TBP, que es una proteína que une secuencias específicas de DNA. El TATA box, que se localiza 25 a 30 pares de bases por encima del punto de comienzo del RNA, es crítico para determinar la posición de este último lugar. Las mutaciones en el TATA box del gen de la β-globina producen en algunos pacientes talasemia β. La comparación de la secuencia de DNA del TATA box en muchos promotores mostró un alto grado de conservación. Cuando se alineó la secuencia de nucleótidos de cada TATA box conocida, en una secuencia ideal —denominada secuencia de consenso— ésta se construyó a partir de los nucleótidos que con más frecuencia se encuentran en cada posición de la secuencia de elementos del DNA. La comparación con la secuencia de consenso permite la identificación de los elementos secuenciales potenciales de DNA en una región promotora no caracterizada. En la medida en que se reconocen las secuencias de consenso para la unión de algunas proteínas reguladoras, puede determinarse la localización y la identidad de los elementos secuenciales de DNA que se unen a los factores de transcripción y a la RNA-polimerasa.

Además del complejo de la RNA-polimerasa, otros factores de transcripción se ligan a los elementos de DNA en la región promotora superior 5' del TATA box. Estos factores influyen en la frecuencia, la eficiencia y, en algunos casos, la especificidad tisular de la iniciación de la transcripción por la RNA-polimerasa. Estas proteínas por lo general contienen un dominio que se une al DNA, capaz de reconocer un elemento específico de la secuencia, y un dominio de activación que, directa o indirectamente, interactúa con el complejo de la RNA-polimerasa II.

Las células utilizan varios mecanismos diferentes para regular la actividad genética mediante los factores de transcripción. La disponibilidad de estos factores proteicos regu-

ladores varía en diferentes tipos celulares y en los distintos estadios de desarrollo. El factor regulador sólo puede sintetizarse cuando se necesita, y es rápidamente degradado (los factores reguladores, como cualquier otra proteína, son codificados por genes que a su vez son regulados transcripcionalmente por proteínas reguladoras que se ligan al DNA). Los motivos estructurales recurrentes en los dominios de unión al DNA proporcionan las bases para la clasificación de los factores de transcripción. Más de 80% de ellos contienen uno de los 4 motivos siguientes: hélice-giro-hélice (HTH), dedo de cinc, cremallera de leucina o hélice-bucle-hélice (HLH). Alternativamente, un factor de transcripción puede modificar su estructura por unión a un ligando, por fosforilación o por el agregado de una proteína adicional.

Los amplificadores son elementos de control transcripcional que, como los promotores, afectan la eficacia de la iniciación de la transcripción. Sin embargo, a diferencia de los promotores pueden regular la transcripción desde larga distancia, con frecuencia varios kilobases. Como los promotores, los amplificadores sólo activan o reprimen genes en configuración *cis* (por ejemplo, sólo pueden afectar a genes que se encuentran en el mismo cromosoma que el amplificador). El mecanismo de la actividad del amplificador no se conoce, pero se piensa que requiere el plegado o enrollado del DNA para permitir la proximidad de las proteínas que se unen a los promotores y a los amplificadores, de manera que puedan interactuar físicamente, con el fin de estimular o reprimir la actividad de la RNA-polimerasa. Algunos amplificadores tienen especificidad por un tipo celular, mientras que otros funcionan en múltiples tipos celulares. Los amplificadores se encuentran con frecuencia más arriba de los promotores con los que interactúan, aunque se han encontrado también en posición 3' con respecto a los promotores.

Regulación genética y diferenciación celular

Cada célula transcribe muchos genes, incluida una estimación de 10.000 a 20.000 genes codificadores de proteínas. Algunos de esos genes codifican proteínas que son requeridas por todo tipo de células, como las que componen estructuras celulares (cromosomas, ribosomas, citoesqueleto, y membranas tanto del retículo endoplasmático como del aparato de Golgi y del núcleo) y enzimas necesarias para las funciones celulares básicas (como el metabolismo celular, y la replicación, transcripción y traslación del DNA). Comúnmente estos genes se denominan domésticos; los factores de transcripción generales requeridos para su expresión también podrían sintetizarse en todas las células.

La expresión de algunos genes es específica para un tipo celular particular o para cierto estadio del desarrollo. A pesar de que la regulación postranscripcional controla la expresión de algunos genes, la mayoría de ellos se regulan en el nivel transcripcional. Estos genes parecen estar regulados principalmente por la presencia o la ausencia de factores reguladores positivos y negativos en los momentos adecuados. Cada factor de transcripción no necesariamente es específico para la regulación de un gen particular; en cambio, es la combinación específica de los factores de transcripción la que otorga la especificidad genética. De esta forma, un número relativamente pequeño de factores puede interactuar en un gran número de combinaciones diferentes para efectuar una regulación genética específica.

REFERENCIAS

The New England Journal of Medicine
332 : 45-47, 1995.
Bioassays
16 : 481-488, 1994.

Protección con amifostina del paciente irradiado

La amifostina administrada por vía intravenosa parece brindar una conveniente protección contra los efectos tóxicos de la radioterapia sobre la médula ósea. La acción citoprotectora se incrementaría en forma paralela al aumento de la dosis de radiación y de amifostina.

Wilhelm Konrad von Röntgen —científico alemán que vivió entre los años 1845 y 1923 y fue distinguido con el Premio Nobel de Física en el año 1901— descubrió a fines del siglo pasado los rayos X, cuyos efectos biológicos se hicieron evidentes en forma precoz. A los pocos años de su descubrimiento ya se había advertido su utilidad para tratar los tejidos anormales, y sus efectos nocivos sobre los tejidos sanos. Desde entonces hasta el presente, los conocimientos en el campo de la radioterapia se han incrementado hasta dejar bien establecido su papel en los tratamientos oncológicos, donde la considera como una segunda línea de ataque —detrás de la cirugía— de muchos cánceres primarios. Disciplinas como la física de las radiaciones, la radiobiología y la práctica clínica hicieron aportes esenciales para profundizar los conocimientos sobre el tema.

Las radiaciones son capaces de causar la destrucción tisular al actuar en diversos sitios claves de la intimidad celular: pueden dañar en forma directa el DNA nuclear o reaccionar con el agua citoplasmática y generar radicales libres de oxígeno, que producen daños irreparables en la membrana o en diversas organelas y vías funcionales esenciales de la célula.

Las radiaciones empleadas con finalidad terapéutica pueden ser de distinto tipo, pero sin dudas para el tratamiento del cáncer las más empleadas son los rayos X (o röntgen) y los rayos γ. En ambos casos se trata de ondas electromagnéticas, de muy escasa longitud de onda, no particuladas, capaces de provocar, al ser absorbidas, la expulsión de un electrón orbital, y a este fenómeno, que da origen a una gran cantidad de energía, se lo conoce con el nombre de "ionización". La diferencia entre ambos tipos de radiaciones reside en la forma en que se producen: los rayos X se generan fuera del núcleo, mientras que los rayos γ son de origen intranuclear. Es decir, la mayoría de los rayos γ empleados en la práctica clínica son producidos por la desintegración de isótopos radiactivos (como el cobalto y el radio), mientras que los rayos X son producidos por máquinas eléctricas (como el acelerador lineal de electrones). Sus efectos biológicos son mejor comprendidos con la idea de que están conformados por pequeños "paquetes" de energía, llamados fotones.

La razón por la cual los rayos X son tan lesivos para los tejidos debe buscarse en su escasa longitud de onda y su poder ionizante, o sea en la capacidad que tienen sus fotones, al incidir sobre un átomo, de provocar la remoción y eyección de un electrón orbitario. La consecuencia es la formación de un radical libre, ion sumamente inestable y reactivo (por presentar un electrón no apareado). De este modo se producen rupturas de las estructuras moleculares y daños biológicos, que es la principal secuela de las radiaciones ionizantes.

La cinética celular

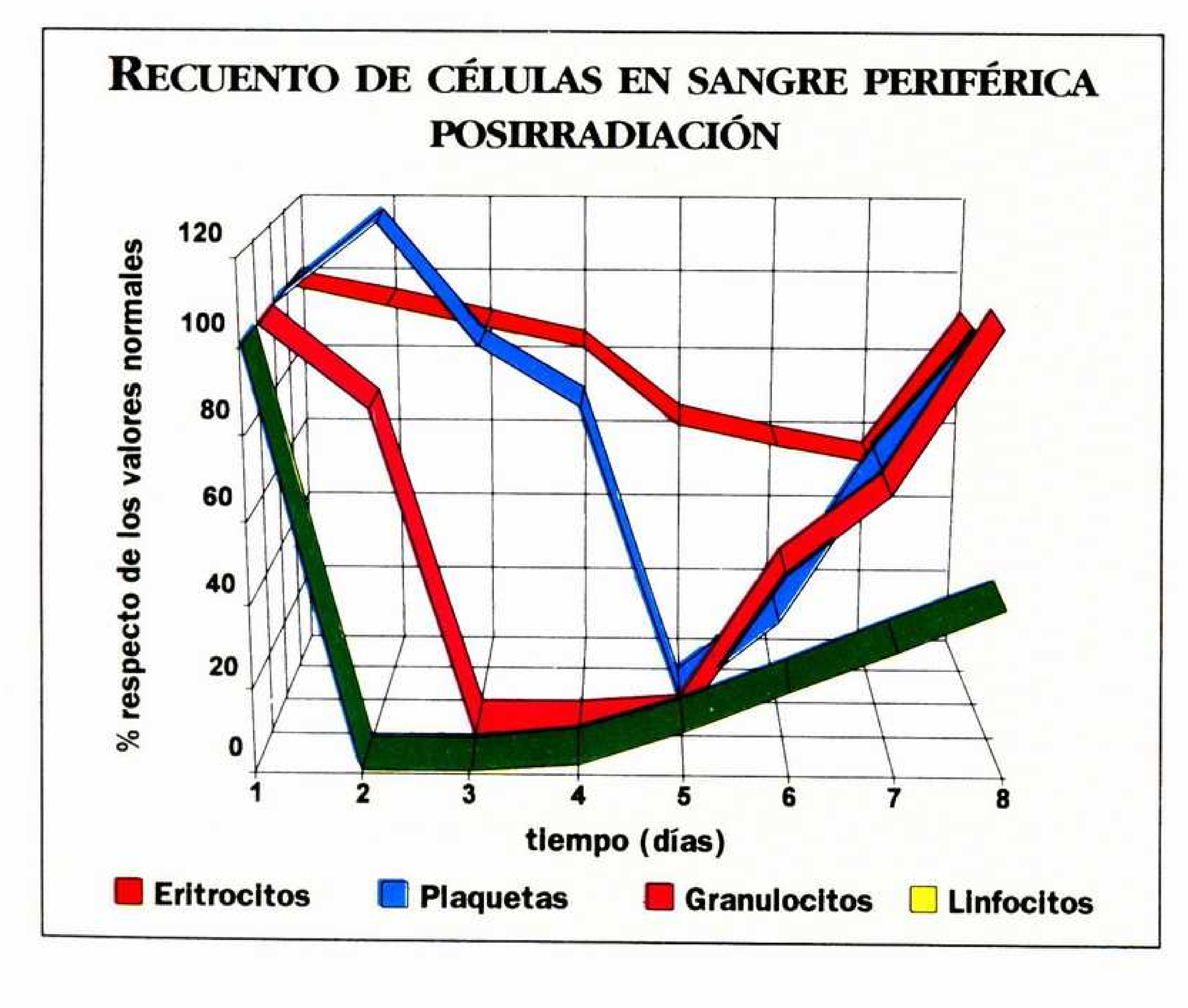
Dado que el crecimiento tumoral es el resultado de la proliferación anárquica y descontrolada de las células neoplásicas, el objetivo de la radioterapia es frenar esa proliferación. Las dosis de radiación empleadas para el tratamiento del cáncer generan una serie de acontecimientos moleculares que llevan a la interrupción de la división celular. El fenómeno de ionización puede afectar tanto al núcleo como al citoplasma o la matriz extracelular; sin embargo, sólo la alteración de material gené-

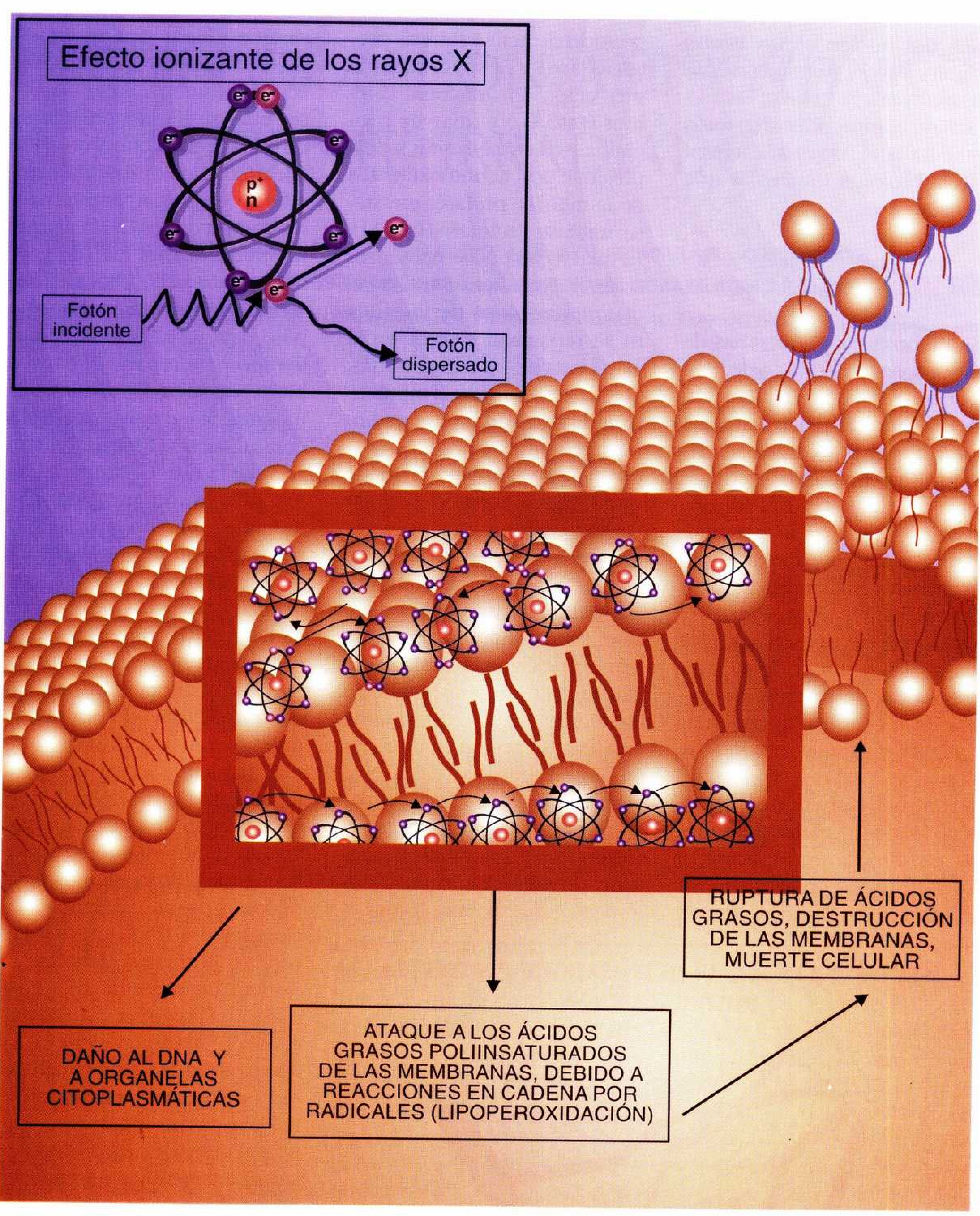
tico del núcleo es un hecho significativo y potencialmente mortal para la célula. Esto es fácil de comprender si se toma en cuenta el "dogma" esencial de la biología molecular que señala:

transcripción traslación
DNA .... RNA .... PROTEÍNA

Mientras las alteraciones de las cadenas proteicas o de RNA pueden repararse, la alteración del código genético, almacenado en el DNA nuclear, desencadena una serie de errores incompatibles para el funcionamiento normal de la maquinaria biológica. El estudio de la cinética celular normal muestra que la mitosis es el final del ciclo vital de una célula. Ésta pasa casi la mitad de su vida creciendo sin cambiar de forma (fase G_1, cuya duración es variable y de ella depende la duración total del ciclo). Luego seguirá un período de aparente reposo celular o interfase en donde se duplicará el DNA y, por consiguiente, la información genética. Es un período de activa síntesis proteica (fase S). Después se inicia una etapa sin mayores cambios (fase G_2) y una vez concluida ésta comenzarán a desplegarse los acontecimientos de la mitosis: profase, metafase, anafase y telofase (fase M). La mitosis no puede comenzar si no se replicó exactamente el material genético de la célula ni se repararon errores en la estructura de los cromosomas. Si esto no ocurre en el momento indicado surgen aberraciones genéticas por exceso o carencia de algún cromosoma, que llevan a la muerte celular o a su transformación cancerosa. Existen fuertes evidencias de que la función de la proteína normal del gen p53 controla el ciclo celular al regular la transcripción o la replicación del ácido desoxirribonucleico mediante una fosfoproteína nuclear. Su acción se ejercería durante la fase G_1 en la cual normalmente el ciclo celular se demora para dar tiempo a la detección y eventual reparación de algún daño del DNA *(check point)* o bien tomar el camino de la apoptosis. Se logró demostrar que las células que ingresan en la fase G_1 se detienen allí siempre y cuando exista una concentración adecuada de la proteína natural del gen p53. Aparentemente, frente a daños del DNA que no comprometen al gen p53, se produce un aumento de la forma natural de la proteína p53, cuyo efecto final es dar tiempo para reparar el daño o bien conducir la célula a la muerte. Si el daño del DNA comprometió el locus del gen p53, en la fase G_1 aumentarán los niveles de proteína p53 mutante, que no ayuda a la reparación ni promueve la autodestrucción de la célula, que avanza en el ciclo celular con su DNA dañado, con las consecuencias que ello acarrea.

Estos conocimientos dan otra explicación de por qué la quimioterapia y la radioterapia, si bien pueden comprometer tanto a las células normales como a las cancerosas, actúan preferentemente sobre las últimas. Esos agentes terapéuticos producen daños adicionales del DNA, que en las células normales inducen la síntesis de proteína p53 normal. Ésta favorece la reparación del daño o lleva a la apoptosis a los clones celulares emergentes con transformaciones moleculares. Las poblaciones de células neoplásicas, en cambio, agregan el nuevo daño de las radiaciones y drogas de uso terapéutico a su ya alterado genoma, pero se siguen reproduciendo sin autoeliminarse, hasta que la acumulación de los errores genéticos es tal que la conduce a una muerte masiva. Sin embargo, algunos clones resistentes pueden sobrevivir a estos fe-





Efecto ionizante de los rayos X.

nómenos o volverse más agresivos. Es que cuando las células son irradiadas puede producirse una lesión realmente mortífera o una subletal que permitiría la reparación si las condiciones posirradiación se modificaran. Luego de sufrir la agresión de los rayos, la célula tumoral puede no tener que enfrentar una división de inmediato y así dispondrá de tiempo para reparar una lesión subletal. Uno de los modelos más empleados para explicar el tipo de cinética tumoral y sus momentos de mayor susceptibilidad a los agentes terapéuticos es el de la "fracción de crecimiento", que se define como la proporción de la población celular que se encuentra en estado proliferante (fases G_1, G_2, S, o M del ciclo). Cuando las células se encuen-

tran en este estadio pueden progresar hasta un "compartimiento" de muerte o pérdida celular, hasta uno de células estériles o bien ingresar en una fase de reposo, quiescencia, o G_0. Existe una posibilidad de reversión desde el compartimiento de quiescencia al de proliferación celular. El crecimiento de los tejidos normales depende de la duración del ciclo celular, de su fracción de crecimiento y de la tasa de destrucción celular. La gran tasa de crecimiento de un tumor podría suponerse que depende del ciclo celular breve, pero en realidad se debe a la gran fracción de crecimiento y a la baja tasa de destrucción celular. Con respecto a su mayor sensibilidad a la radioterapia, se pudo verificar que sólo las células que se encuentran en fase de proliferación tienen esa característica; además no todas las fases presentan la misma susceptibilidad: las comprobaciones (tanto *in vitro* como *in vivo*) evidenciaron que las células son más radiosensibles en la fase M de mitosis y hacia el final de la fase G_1. Luego van haciéndose progresivamente más resistentes a medida que avanzan por la fase S, para volverse otra vez sensibles cuando entran en la fase G_2, antes de la próxima mitosis. Durante una sesión de irradiación, la respuesta de los tejidos normales y cancerosos dependerá de si hubo un número importante de células proliferantes y por lo tanto más expuestas a sufrir la agresión ionizante. (Con determinadas combinaciones de drogas, es posible lograr que las variaciones de radiosensibilidad de las células se produzcan en forma sincrónica y bajo condiciones clínicamente controladas.)

El daño del "volumen de tránsito"

Una de las características de los rayos X es que actúan en forma aleatoria, afectando la totalidad de las células que se interponen a su paso: los fotones chocan contra la superficie del cuerpo y son absorbidos y dispersados en las capas tisulares; es decir que no sólo pueden perjudicar a los tejidos tumorales sino también a los normales que se ubican entre la fuente de emisión del rayo y la masa tumoral. Estos tejidos sanos se denominan "volumen de tránsito". Su presencia genera uno de los principales desafíos de la radioterapia, que es encontrar la dosis justa de radiación como para depositar la mayor cantidad de energía posible en el blanco tumoral, para frenar su recurrencia y evitar el daño irreversible de los elementos tisulares que forman el volumen de tránsito. El término "radioterapia radical" expresa la intención de lograr la erradicación del tumor suministrando la máxima dosis que los tejidos normales irradiados puedan soportar. Esta dosis máxima, que puede indicarse en forma segura para un determinado tipo o volumen de tránsito, es conocida como "dosis de tolerancia". La susceptibilidad de cada órgano en particular a los efectos de la radioterapia dependerán fundamentalmente de sus compartimientos de células troncales proliferativas. Sin embargo, también existen tejidos (como el músculo esquelético, cardíaco o los nervios) que si bien no tienen una importante actividad mitótica ven alterada su capacidad de radiotolerancia por la afección del endotelio de sus vasos nutricios. Los tejidos que por su especial radiosensibilidad acotan las posibilidades de incrementar la dosis radiante son conocidos como "tejidos limitantes". Entre ellos se puede mencionar a la piel, la médula ósea y el tracto digestivo (que reaccionan en forma precoz) y el pulmón, el riñón, y la médula espinal (que reaccionan en forma tardía a la radioterapia). Los tejidos que exteriorizan el daño de las radiaciones en forma aguda, lo hacen en función de la aceleración cinética de sus poblaciones celulares. La toxicidad aguda de mayor gravedad se observa en la piel y mucosas dentro del campo irradiado. El efecto nocivo de la radiación sobre las células troncales de la médula ósea puede verificarse en forma de una disminución en el recuento de células sanguíneas en sangre periférica. Este daño puede llegar a ser irreversible, aunque lo habitual es que los recuentos celulares vuelvan a la normalidad, si bien la reserva medular queda francamente comprometida. El tiempo que habrá de transcurrir entre la irradiación, el momento de máxima depresión medular y la recuperación, variará en función de la cinética celular de los distintos tipos de poblaciones de células troncales. Con respecto al sistema inmunitario, los órganos linfoides son sensibles a la radiación y los pacientes sometidos a radioterapia de campo extendido sufren un cierto grado de inmunosupresión que puede ser permanente a menos que reci-

ban un tratamiento reconstituyente. Quienes fueron irradiados en forma regional recuperan su función inmune normal. El intestino delgado es el sitio de mayor radiosensibilidad del tracto digestivo, fundamentalmente en el nivel de las criptas de la mucosa donde se encuentran las células generadoras del recambio epitelial.

La toxicidad crónica suele ser de mayor gravedad que la precoz y muchas veces limita la dosis aplicable. Las manifestaciones crónicas del daño inducido por las radiaciones pueden estar relacionadas con la alteración de las paredes de los vasos que irrigan al órgano, o con el agotamiento de las células troncales de un tejido que tiene poca capacidad de regeneración. Entre las más severas se encuentran la neumonitis, la pericarditis constrictiva, la transección medular, y los procesos de ulceración y fibrosis que pueden comprometer distintos órganos e inducir la estenosis de vísceras huecas.

Probablemente una de las complicaciones más temidas de la radioterapia sea el desarrollo de una segunda neoplasia, vinculada con la actividad mutagénica de las radiaciones. Este fenómeno puede verificarse con una tasa de 1% por año o más en la población tratada y el nuevo tumor suele aparecer en la misma zona de irradiación o en sus adyacencias. De todas formas, está bien comprobado que son las leucemias los procesos neoplásicos más frecuentes inducidos por las radiaciones ionizantes. La esterilidad causada por la irradiación de las gónadas es una eventualidad bien conocida, lo mismo que la teratogenicidad, y la posibilidad de que se originen cataratas o daño retiniano que llevan a la ceguera.

Las estrategias de citoprotección

La amifostina (Ethyol®), (denominada en forma preliminar WR2721) es un tiofosfato orgánico (ácido S-2-(3-aminopropilamino)etil-fosforotioico; NSC 296961) que se desarrolló e introdujo en el campo de la radioterapia a principios de los 80. El interés que despertó este compuesto sulfhidrílico se relacionó con su actividad de "protección selectiva" de diversos tejidos normales, sin afectar la eficacia de la radioterapia sobre ciertos tumores sólidos; o sea, que el fármaco se comporta como citoprotector. Se observó que la protección es mayor cuando se administra en forma previa a la radioterapia (entre 15 a 30 minutos antes de la sesión). Se pensó entonces que el mecanismo radioprotector podría estar vinculado con algún tipo de interferencia con las reacciones formadoras de radicales libres, ya que los agentes que incluyen en su molécula un grupo -SH se comportan como reductores. En el caso de la amifostina, la radioprotección podría ser consecuencia de la acción del grupo químico tiol, que se comportaría como un barredor de los radicales libres de oxígeno y como un donante de hidrógenos. En realidad la amifostina comenzó a ser desarrollada por el Departamento de Defensa de los Estados Unidos, con la intención de ofrecer cierta protección al personal militar potencialmente expuesto a las explosiones atómicas. Este uso fue abandonado en forma temprana, debido a su escasa absorción en el tubo digestivo y a los efectos adversos asociados en el tracto gastrointestinal. Las investigaciones se orientaron hacia una aplicación puramente médica, terreno en el que continúan en la actualidad con auspiciosos resultados. Los distintos estudios clínicos realizados hasta el presente confirman que su administración pretratamiento reduce la toxicidad de la radioterapia ionizante y de los agentes alquilantes. Las dosis habituales de amifostina son de 740-910 mg/m^2, administrados por infusión intravenosa (durante aproximadamente 15 minutos). Los estudios en animales de laboratorio y en seres humanos parecen demostrar que la droga experimenta una rápida y elevada captación en la médula ósea, la mucosa gastrointestinal, el hígado y las glándulas salivales. Asimismo pudo demostrarse que la captación por los tejidos tumorales es prácticamente nula. Con respecto a los efectos adversos, la hipotensión es uno de ellos y puede actuar como factor limitante de la dosis. Este fenómeno ocurre con más frecuencia en los pacientes que padecen cáncer de cabeza y cuello, de esófago o de pulmón, y en especial en quienes fueron previamente irradiados en el territorio cervical o presentan compromiso de la arteria carótida. La incidencia de éste y otros efectos adversos (como la somnolencia, las náuseas, los vómitos, la rubefacción, y las crisis de estornudos) es mayor cuando el tiempo de infusión de la droga se prolonga más de 15 minutos.

Referencias

Seminars in Oncology *21 (supl. 11)* : 16-20, 21-25, 1994.



Schering Plough S.A.C.I.
Av. San Martín 1750 (1602)
Florida BUENOS AIRES
Tel.: 796-5111